



(21)申請案號：113126533

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 06 月 25 日

(51)Int. Cl.：

C07K7/62 (2006.01)

A61K38/12 (2006.01)

A61P3/04 (2006.01)

(30)優先權：2018/06/25

美國

62/689,602

(71)申請人：新加坡商雲頂新耀股份有限公司 (新加坡) EVEREST MEDICINES (SINGAPORE) PTE. LTD. (SG)

新加坡

(72)發明人：布朗 潘美拉 BROWN, PAMELA (GB)；道森 麥克 DAWSON, MICHAEL (GB)；西莫諾維克 蒙娜 SIMONOVIC, MONA (GB)；布克斯 史帝芬 BOAKES, STEVEN (GB)；杜波奇 伊斯特 DUPERCHY, ESTHER (FR)；李佛斯 狄恩 RIVERS, DEAN (GB)；李斯特 羅伊 LESTER, ROY (GB)；柯爾曼 史考特 COLEMAN, SCOTT (US)

(74)代理人：李世章；彭國洋

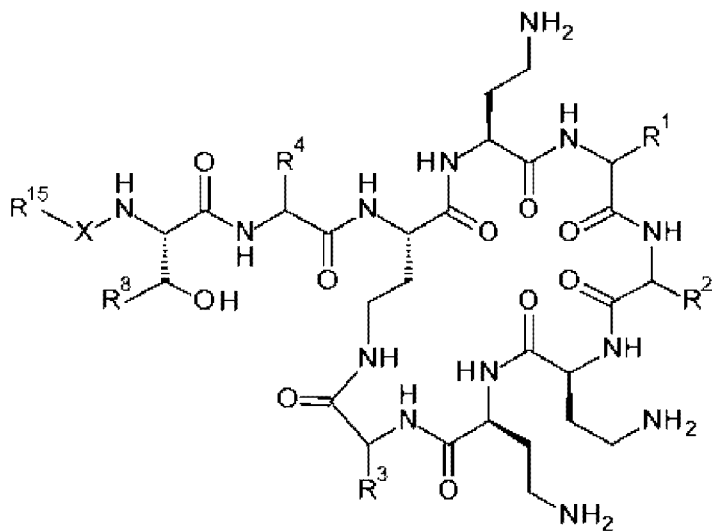
申請實體審查：有 申請專利範圍項數：21 項 圖式數：0 共 122 頁

(54)名稱

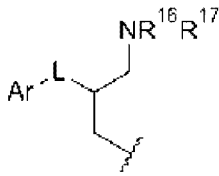
化合物

(57)摘要

本發明提供式(I)之多黏菌素化合物及其鹽、溶劑合物及經保護形式、包含式(I)化合物之醫藥組合物，以及該等化合物及組合物在治療方法，諸如治療微生物感染之方法中的用途。式(I)化合物表示如下：

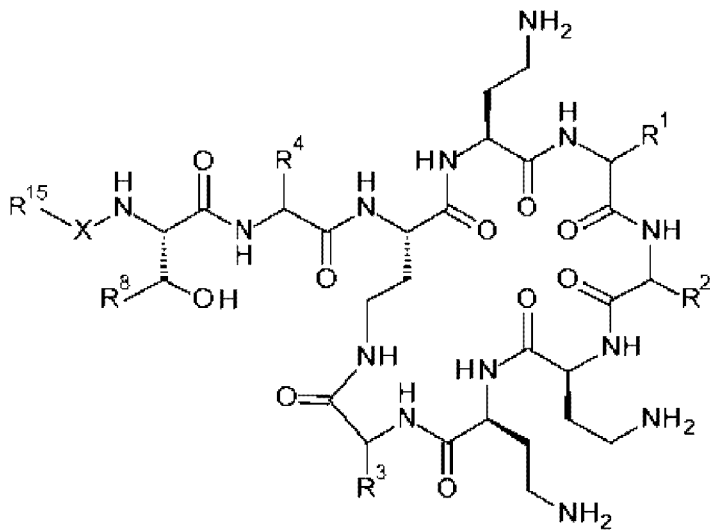


其中-R¹⁵ 為以下基團：

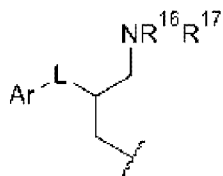


且-R¹⁶ 為氫；-R¹⁷ 為氫；-L-為共價鍵或亞甲基；且-Ar 為視情況經取代之芳基。基團-X-、-R¹、-R²、-R³、-R⁴ 及-R⁸ 如本文中所定義。

The invention provides a polymyxin compound of formula (I) and salts, solvates and protected forms thereof, pharmaceutical compositions comprising the compounds of formula (I), and the use of the compounds and compositions in methods of treatment, such as methods for the treatment of microbial infections. The compounds of formula (I) are represented thus:



wherein -R¹⁵ is a group:



and -R¹⁶ is hydrogen; -R¹⁷ is hydrogen; -L- is a covalent bond or methylene; and -Ar is optionally substituted aryl. The groups -X-, -R¹, -R², -R³, -R⁴, and -R⁸ are as defined herein.

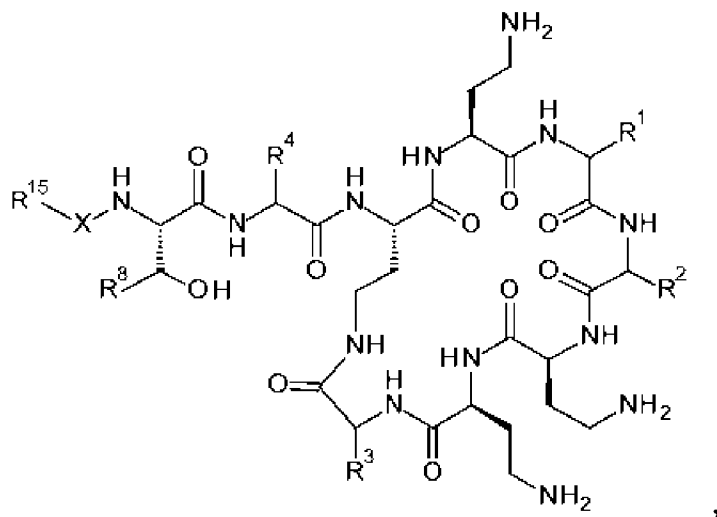
【發明摘要】

【中文發明名稱】化合物

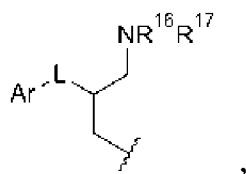
【英文發明名稱】COMPOUNDS

【中文】

本發明提供式(I)之多黏菌素化合物及其鹽、溶劑合物及經保護形式、包含式(I)化合物之醫藥組合物，以及該等化合物及組合物在治療方法，諸如治療微生物感染之方法中的用途。式(I)化合物表示如下：



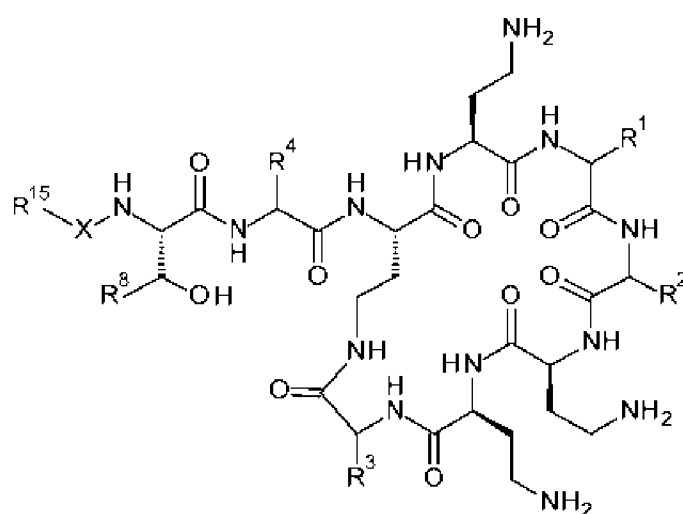
其中 -R¹⁵ 為以下基團：



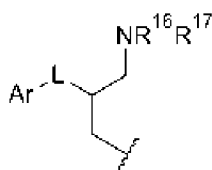
且 -R¹⁶ 為氫；-R¹⁷ 為氫；-L- 為共價鍵或亞甲基；且 -Ar 為視情況經取代之芳基。基團 -X-、-R¹、-R²、-R³、-R⁴ 及 -R⁸ 如本文中所定義。

【英文】

The invention provides a polymyxin compound of formula (I) and salts, solvates and protected forms thereof, pharmaceutical compositions comprising the compounds of formula (I), and the use of the compounds and compositions in methods of treatment, such as methods for the treatment of microbial infections. The compounds of formula (I) are represented thus:



wherein $-R^{15}$ is a group:



and $-R^{16}$ is hydrogen; $-R^{17}$ is hydrogen; $-L$ is a covalent bond or methylene; and $-Ar$ is optionally substituted aryl. The groups $-X$ -, $-R^1$ -, $-R^2$ -, $-R^3$ -, $-R^4$ -, and $-R^8$ are as defined herein.

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】化合物

【英文發明名稱】COMPOUNDS

【技術領域】

相關申請案

【0001】 本案主張2018年6月25日(25.06.2018)申請之US 62/689602之權益及優先權，該案之內容以引用之方式整體併入本案中。

【0002】 本發明係關於新穎多黏菌素化合物、包含該等化合物之醫藥組合物，以及該等化合物及該等醫藥組合物用於醫學治療，例如治療微生物感染，尤其是由革蘭氏陰性細菌引起之感染的用途。

【先前技術】

【0003】 WO 2013/072695 及 WO 2014/188178 描述多黏菌素B或黏菌素之N末端脂肪醯基部分及相鄰二胺基丁酸部分被具有胺基取代基之末端基團置換的多黏菌素衍生物。該等衍生物具有良好抗細菌活性，同時具有降低之細胞毒性。

【0004】 WO 2015/135976 亦描述同樣為多黏菌素B或黏菌素之N末端脂肪醯基部分及相鄰二胺基丁酸被具有胺基取代基之末端基團置換的多黏菌素衍生物。此處，

胺基取代基之特定位置及N末端部分中其他取代基之安置顯示對諸如大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、肺炎克雷伯氏桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 及鮑氏不動桿菌 (*Acinetobacter baumannii*) 之眾多關鍵病原體之強抗微生物活性為重要的。所揭示之化合物亦保持低細胞毒性。

【0005】 WO 2016/083531 描述同樣為多黏菌素 B 或黏菌素之 N 末端脂肪醯基部分及相鄰二胺基丁酸被具有胺基取代基之末端基團，諸如 WO 2013/072695、WO 2014/188178 及 WO 2015/135976 中所呈現之彼等基團置換的多黏菌素衍生物。另外，相對於多黏菌素 B 及黏菌素，第 6 位及 / 或第 7 位之胺基酸殘基經取代。

【0006】 為了比目前可利用的多黏菌素更適用於對全身性感染進行非經腸治療，新多黏菌素衍生物必須至少與此等已知多黏菌素之活性相匹配，同時具有顯著較低之體內腎毒性。

【發明內容】

【0007】 在一般態樣中，本發明提供具有去醯基化多黏菌素核心之化合物，該去醯基化多黏菌素核心為諸如第 3 位胺基酸殘基經 Dap 取代且在其 N 末端具有如本文中所述定義之基團 -X-R¹⁵ 之多黏菌素 B 或黏菌素九肽核心。該等化合物得以用於治療或預防方法中，視情況與第二活性

劑組合。該等化合物可用於治療微生物感染，諸如革蘭氏陰性細菌感染。

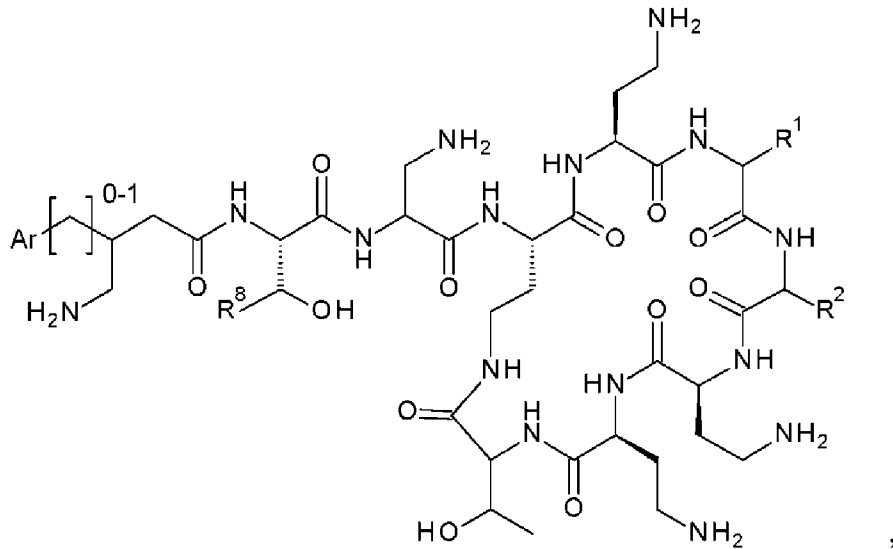
【0008】 本發明化合物顯示在非經腸給藥後具有與可接受之腎臟藥物水準相稱的低細胞毒性。本發明化合物顯示優於多黏菌素 B，以及此項技術中已知的經修飾之多黏菌素化合物，包括本申請人先前報導之彼等多黏菌素化合物。此優越性體現在一或多個以下特徵：非經腸給藥後之較低細胞毒性、可接受之腎臟藥物水準（亦即，由於腎臟藥物水準不高而產生可接受之腎毒性）；在小鼠大腿及肺模型中之效力；及/或針對病原性細菌株之優越 MIC，而在其他細菌株中與先前技術化合物相當。

【0009】 典型地，此項技術中已知的化合物展現此等有利特徵中之一種或可能兩種，而非全部。舉例而言，發現具有較低細胞毒性之多黏菌素化合物現相對常見，但此較低細胞毒性通常伴隨抗細菌活性降低。此外，可能發現具有較低細胞毒性之化合物在給藥後仍以高水準處於腎臟內。該等化合物因此仍具毒性，且不適用於醫學治療方法中。

【0010】 在本發明之第一態樣中，提供一種式(I)化合物及其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、經保護形式及前藥形式。式(I)化合物表示如下：

- Ar 為視情況經取代之芳基，諸如經取代之苯基。

【0011】 式(I)化合物亦可表示如下：



其中 -R¹、-R²、-R⁸ 及 -Ar 具有與以上相同之含有，及其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、經保護形式及前藥形式。

【0012】 本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含式(I)化合物，視情況連同一或多種醫藥學上可接受之載劑。

【0013】 在另一態樣中，提供一種式(I)化合物或包含式(I)化合物之醫藥組合物，以供用於治療或預防方法中。

【0014】 在另一態樣中，提供一種式(I)化合物或包含式(I)化合物之醫藥組合物，以供用於治療微生物感染之方法中。

【0015】 本發明亦提供一種治療方法，該方法包括向有需要之個體投與式(I)化合物或包含式(I)化合物之醫藥組合物的步驟。該方法可用於治療微生物感染。

【0016】 微生物感染可為細菌感染，諸如革蘭氏陰性細菌感染。革蘭氏陰性細菌感染可選自由以下組成之群：大

腸桿菌屬 (*Escherichia* spp.)、克雷伯氏桿菌屬 (*Klebsiella* spp.)、腸桿菌屬 (*Enterobacter* spp.)、沙門氏菌屬 (*Salmonella* spp.)、志賀氏菌屬 (*Shigella* spp.)、檸檬酸桿菌屬 (*Citrobacter* spp.) 及其他腸桿菌科 (*Enterobacteriaceae*)、假單胞菌屬 (*Pseudomonas* spp.)、不動桿菌屬 (*Acinetobacter* spp.)、窄食單胞菌屬 (*Stenotrophomonas*) 及退伍軍人桿菌屬 (*Legionella*)。

【0017】 本發明亦提供用於製備式(I)化合物之方法以及用於製備式(I)化合物之中間化合物。

【0018】 下文更詳細描述本發明之此等及其他態樣及實施例。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

【0019】 本發明提供式(I)化合物，包括如以下更詳細描述之式(II)及式(III)化合物，以供用於醫學治療，視情況與第二活性劑一起使用。

【0020】 一般而言，式(I)、式(II)及式(III)之化合物具有多黏菌素核心(其為九肽核心)及處在多黏菌素核心N末端之基團 - X - R¹⁵。基團 - R¹⁵ 為經取代之 γ -胺基丙基。 γ -胺基丙基在相對於 - X - 部分之 β 位經視情況經取代

之芳基或芳烷基取代。本發明化合物之環外鏈中之第一胺基酸殘基，對應於多黏菌素中之第3位，為Dap殘基(二胺基丙酸)，諸如L-Dap，而非如多黏菌素B及黏菌素中所存在之L-Dab殘基(L-二胺基丁酸)。

【0021】 多黏菌素化合物第6位及第7位之胺基酸殘基(遵循用於多黏菌素之編號)可對應於多黏菌素B及黏菌素中所存在之彼等胺基酸殘基。第6位及/或第7位之胺基酸殘基可經與多黏菌素B及黏菌素內所存在之胺基酸殘基不同的胺基酸殘基取代。

【0022】 為了比目前已知的系列多黏菌素化合物更適用於對全身性感染進行非經腸治療，新多黏菌素衍生物必須至少匹配彼等已知多黏菌素化合物之抗細菌活性，同時具有顯著較低之活體內腎毒性。

【0023】 現已發現，多黏菌素化合物不足以展現較低細胞毒性，因而通常與活體內毒性降低無關。因而，藥物在腎臟中積聚及自其中清除亦必須為有利的。換言之，非經腸給藥後細胞毒性與腎臟藥物水準之組合為引起有利活體內毒性概況之原因。

【0024】 此可利用以下表A中所示之實例比較來顯示，其中PMBN係指多黏菌素B九肽核心且PMEN係指多黏菌素E九肽核心，在適當時顯示對第3位及第6位胺基酸殘基(根據多黏菌素編號)之取代(例如，第3位處Dap置換Dab，及第6位處環己基丙胺酸(CHA)置換苯丙胺酸)。

次，且基於相同實驗中之PMB值來計算相對值。平均值為23

【0028】***在WO 2016/083531中，針對此化合物(實例38)引用255 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之 IC_{50} ，而針對多黏菌素B引用12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。然而，該申請案中所使用之PMB數值為來自多次實驗之中值。此處引用之數值9.2與相同實驗中針對PMB測定之 IC_{50} 值相比較

【0029】本申請人先前已在WO 2015/135976中揭示具有經苯基或苯甲基部分取代之N末端 γ -胺基丙基的多黏菌素九肽。然而，苯基或苯甲基取代基相對於-X-基團提供在 α 位而非 β 位。WO 2015/135976亦描述具有在 α 位經苯甲基取代之N末端 β -胺基乙基之多黏菌素九肽。此處，胺基官能基相對於-X-基團提供在 β 位而非 γ 位。

【0030】儘管此等已知化合物與多黏菌素B相比顯示有前景之活性及適度改良之細胞毒性，但此等化合物次於本發明化合物，因為其在給藥後不顯示相稱之低細胞毒性與可接受之腎臟水準之組合。

【0031】此利用以下表B中所示之實例比較來顯示，其中PMBN係指多黏菌素B九肽核心，適當時對第3位胺基酸殘基進行取代(例如，第3位處Dap置換Dab)。

表 B

化合物	結構	細胞毒性	腎臟中藥物 水準($\mu\text{g/g}$ 腎 臟, 4h)	4h 腎臟水準/ 腎細胞毒性
參考化合物D6 WO 2015/135976		4.4*	235	53
參考化合物**		5.1	589	115
參考化合物**		4.8	533	111
實例1		8.8	268	30
實例5		11.6	170	15

(0032) * 此化合物為 WO 2015/135976 中之實例 D6。其中針對相對細胞毒性引用之數值為 3.7。此數值為兩次重複測定之平均值。

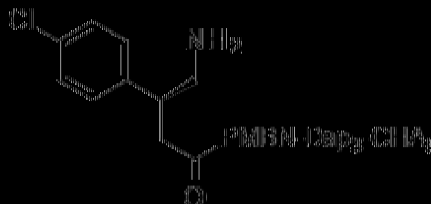

(0033) ** 此等參考實例之化合物可根據 WO 2015/135976 中所描述之方法來製備，該案之內容係以引用之方式整體併入本文中。

(0034) 本申請人先前已在 WO 2016/083531 中揭示具有經修飾之 N 末端基團，尤其是包括 β -芳基或 β -芳烷基之彼等 N 末端基團的多黏菌素九肽。然而，此等已知化

合物在第6位具有親脂性胺基酸殘基，諸如環己基丙胺酸殘基，而本案之化合物在第6位具有例如苯丙胺酸、白胺酸、正白胺酸、纈胺酸或正纈胺酸殘基。鑑於給藥後之不良細胞毒性與腎臟藥物水準組合，此等已知化合物同樣次於本發明化合物。

(0035) 此可利用以下表C中所示之實例比較來顯示，其中PMBN係指多黏菌素B九肽核心，在適當時顯示對第3位及第6位胺基酸殘基(根據多黏菌素編號)之取代(例如，第3位處Dap置換Dab，及第6位處環己基丙胺酸(CHA)置換苯丙胺酸)。

表C

化合物	結構	細胞毒性	腎臟中藥物水準($\mu\text{g/g}$ 腎臟, 4h)	4h腎臟水淨/腎細胞毒性
參考化合物50 WO 2016/083531		7.4	463	63
參考化合物58 WO 2016/083531		5.2	212	32
實例1		8.8	268	30
實例9		12.0	159	13

【0036】 已知化合物 50 及化合物 58 來自 WO 2016/083531，且此等為該案中鑑定為異構體 1 之化合物。

多黏菌素化合物

【0037】 式(I)化合物為多黏菌素九肽系列化合物之 N 末端衍生物。式(I)化合物之核心為九肽衍生物，諸如多黏菌素 B 九肽 (PMBN，多黏菌素 B 2-10)，其中第 3 位胺基酸殘基經 Dap 取代。視情況，第 6 位及 / 或第 7 位之胺基酸殘基經諸如本文中所描述之另一胺基酸取代。式(I)化合物具有處於多黏菌素核心 N 末端之基團 -X-R¹⁵。此詳細描述於下文。

-R¹

【0038】 基團 -R¹ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起對應於多黏菌素系列化合物中第 6 位之胺基酸殘基。

【0039】 第 6 位之胺基酸殘基可與多黏菌素 B 第 6 位之胺基酸殘基相同。亦即，R¹ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起可為 D-苯丙胺酸殘基。

【0040】 第 6 位之胺基酸殘基可與黏菌素之第 6 位胺基酸殘基相同。亦即，R¹ 與羰基及處於其連接之碳之 α 位的氮一起可為 D-白胺酸殘基。

【0041】 在一個實施例中，-R¹ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為苯丙胺酸、白胺酸、正白胺酸、纈胺酸或正纈胺酸殘基。該胺基酸殘基可為 D 形式。

【0042】 在一個實施例中， $-R^1$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為胺基酸殘基，諸如苯丙胺酸、白胺酸或正白胺酸殘基。該胺基酸殘基可為D形式。

【0043】 在一個實施例中， $-R^1$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為苯丙胺酸殘基，例如D-苯丙胺酸，或白胺酸殘基，諸如D-白胺酸殘基。

【0044】 對第6位胺基酸殘基之取代可自例如WO 2016/083531獲知。

$-R^2$

【0045】 基團 $-R^2$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起對應於多黏菌素系列化合物中第7位之胺基酸殘基。

【0046】 基團 $-R^2$ 為視情況經一個羥基取代之 C_{1-4} 烷基。

【0047】 在一個實施例中， $-R^2$ 為 C_{1-4} 烷基。此基團未經取代。

在一個實施例中， $-R^2$ 為視情況經一個羥基取代，諸如未經取代之 C_{3-4} 烷基，諸如 C_4 烷基。

【0048】 第7位之基團胺基酸殘基可與多黏菌素B及黏菌素第7位之胺基酸殘基相同。亦即， R^2 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起可為L-Leu殘基。

【0049】 在一個實施例中， $-R^2$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為白胺酸、異白胺酸、苯丙胺酸、酥

胺酸、纈胺酸、正纈胺酸、丙胺酸、酰胺酸或胺基丁酸殘基。該胺基酸殘基可為L形式。

【0050】 在一個實施例中， $-R^2$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為白胺酸、胺基丁酸或酰胺酸殘基。該胺基酸殘基可為L形式。

【0051】 在其他實施例中，相對於多黏菌素B及黏菌素，第7位胺基酸殘基可經另一胺基酸殘基取代。

【0052】 在一個實施例中， $-R^2$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為白胺酸、酰胺酸或胺基丁酸(Abu)殘基，諸如L-白胺酸、L-酰胺酸或L-Abu。

【0053】 對第7位胺基酸殘基之取代尤其描述於例如WO 2016/083531及Velkov等人中。

$-R^3$

【0054】 基團 $-R^3$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起對應於多黏菌素系列化合物中第10位之胺基酸殘基。

【0055】 基團 $-R^3$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為酰胺酸，諸如L-酰胺酸。

$-R^4$

【0056】 基團 $-R^4$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起對應於多黏菌素系列化合物中第3位之胺基酸殘基。

【0057】 在本發明化合物中，第3位之胺基酸殘基不為多黏菌素B及黏菌素第3位之胺基酸殘基L-Dab。在本發

明化合物中， $-R^4$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為 **D a p**，諸如 **L - D a p**。

【0058】 $-R^4$ 為 **D a p** 側鏈，諸如 **L - D a p** 之化合物可使用 **W O 2015/135976** 中所描述之方法來製備。

【0059】 在式(I)化合物中，**D a p** 側鏈內之胺基可受保護，例如該胺基可受 **B o c** 保護。

$-R^8$

【0060】 基團 $-R^8$ 與羰基及處於其經由羥基亞甲基間隔基 ($-\text{CH}(\text{OH})-$) 連接之碳之 β 位的氮一起對應於多黏菌素系列化合物中第2位之胺基酸殘基。

【0061】 第2位之胺基酸殘基可與多黏菌素 **B** 及黏菌素第2位之胺基酸殘基相同。亦即， R^1 與羰基及處於其經由羥基亞甲基間隔基連接之碳之 β 位的氮一起可為 **L - 酰胺** 殘基。

【0062】 包括基團 $-R^8$ 之胺基酸殘基對應於多黏菌素系列化合物中之第2位。

在一個實施例中， $-R^8$ 為甲基。所得胺基酸因此為 **T h r**。

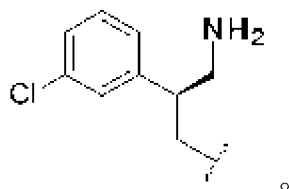
在一個實施例中， $-R^8$ 為 **H**。所得胺基酸因此為 **S e r**。

典型地， $-R^8$ 為甲基。

$-X-$

【0063】 基團 $-X-$ 為 $-\text{C}(\text{O})-*$ 。

【0064】 星號指示與多黏菌素九肽核心胺基末端 **NH**，諸如第2位胺基酸之連接點。基團 $-X-$ 之左手側為與 $-R^{15}$ 之連接點。



【0072】 $-R^{15}$ 內之例示性基團如下所示。

$-R^{16}$ 及 $-R^{17}$

【0073】 基團 $-R^{16}$ 及 $-R^{17}$ 皆為氫。

【0074】 在式 (I) 化合物中，基團 $-NR^{16}R^{17}$ 可受保護，例如基團 $-NR^{16}R^{17}$ 可受 **Boc** 保護。

$-L-$

【0075】 該基團可為共價鍵亞甲基 ($-CH_2-$)。

【0076】 典型地， $-L-$ 為共價鍵。

$-Ar$

【0077】 基團 $-Ar$ 為芳基，諸如碳芳基或雜芳基。該芳基視情況經取代。

該芳基可為 C_6 芳基，諸如苯基，或 C_5 芳基，諸如噻吩。

【0078】 基團 $-Ar$ 可為苯基，且此視情況經取代，諸如經取代。在一個實施例中， $-Ar$ 為未經取代之苯基。

【0079】 芳基可諸如經一或多個基團 $-R^S$ 取代。各基團 $-R^S$ 係獨立地選自鹵基、烷基、鹵烷基及芳基，諸如鹵基及烷基。

【0080】 芳基可經一、二或三個 $-R^S$ 基團，諸如一或兩個基團，諸如一個基團 (單取代) 取代。

【0081】 鹵基可選自氟基、氯基、溴基及碘基，且可選自氟基及氯基，諸如氯基。

鹵基可為氯基。

【0082】 烷基可為 C_{1-6} 烷基，諸如 C_{1-4} 烷基，諸如 C_{1-3} 烷基，諸如 C_3 烷基。

烷基可選自甲基、乙基及丙基，包括正丙基及異丙基。

烷基可為異丙基。

【0083】 鹵烷基可為經一或多個鹵基取代之 C_{1-6} 烷基，諸如 C_{1-4} 烷基，諸如 C_{1-2} 烷基。烷基可經鹵基全取代，例如經氟全取代。

鹵烷基可為三氟甲基。

【0084】 在 $-R^S$ 為芳基時，此可為碳芳基或雜芳基。芳基可為 C_{5-6} 芳基，諸如 C_5 芳基。 C_5 芳基可選自噻吩基、呋喃基、吡咯基、吡啶基、噻啶基、異噻啶基、噁啶基及異噁啶基。 C_6 芳基可為苯基

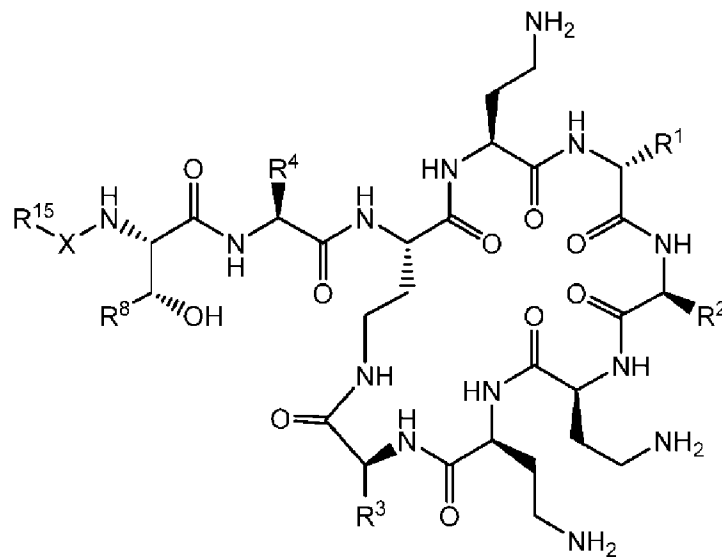
芳基可為噻吩基，諸如噻吩-2-基。

芳基本身可視情況經一、二或三個 $-R^{Ar}$ 基團，諸如一或兩個基團，諸如一個基團(單取代)取代。各基團 $-R^{Ar}$ 係獨立地選自鹵基、烷基、鹵烷基及芳基，諸如鹵基及烷基。此等基團可具有與以上所描述之基團相同的含義，但芳基未經取代。

【0085】 基團 $-Ar$ 可為鹵基苯基或烷基苯基。

鹵基苯基可選自2-鹵基苯基，諸如2-氯苯基；3-鹵基苯基，諸如3-氯苯基；及4-鹵基苯基，諸如4-氯苯基。

【0090】 在一些實施例中，式(I)化合物為具有如以下所描繪之 R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 部分取向的式(Ia)化合物：



其中 $-X-$ 、 $-R^1$ 、 $-R^2$ 、 $-R^3$ 、 $-R^4$ 、 $-R^8$ 及 $-R^{15}$ 如針對式(I)化合物所定義，

或其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、經保護形式或前藥形式。

【0091】 在式(Ia)化合物內， $-R^1$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為D-苯丙胺酸、D-白胺酸或D-正白胺酸。在式(Ia)化合物內， $-R^2$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為L-白胺酸、L-胺基丁酸或L-酰胺酸殘基。

【0092】 式(Ia)化合物可為如下化合物：其中 $-L-$ 為共價鍵或 $-CH_2-$ 且 $-Ar$ 為視情況經一或兩個選自由鹵基、 C_1-C_6 烷基、視情況經取代之芳基及視情況經取代之雜芳基組成之群的基團取代的苯基。舉例而言， $-Ar$ 可為視情況經一或兩個選自由氯基、溴基、噻吩基、苯基、甲基、異丙基及異丁基組成之群的基團取代的苯基。

【0093】 此處，-Ar可選自苯基、3-氯苯基、4-氯苯基、3-異丙基苯基、3-異丁基苯基、3-甲基苯基、3-溴苯基、1,1'-聯苯-3-基、3,5-二氯苯基及噻吩-3-基苯基。

【0094】 本發明化合物可為式(I)化合物，其中：

-R¹與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為D-苯丙胺酸、D-白胺酸或D-正白胺酸；

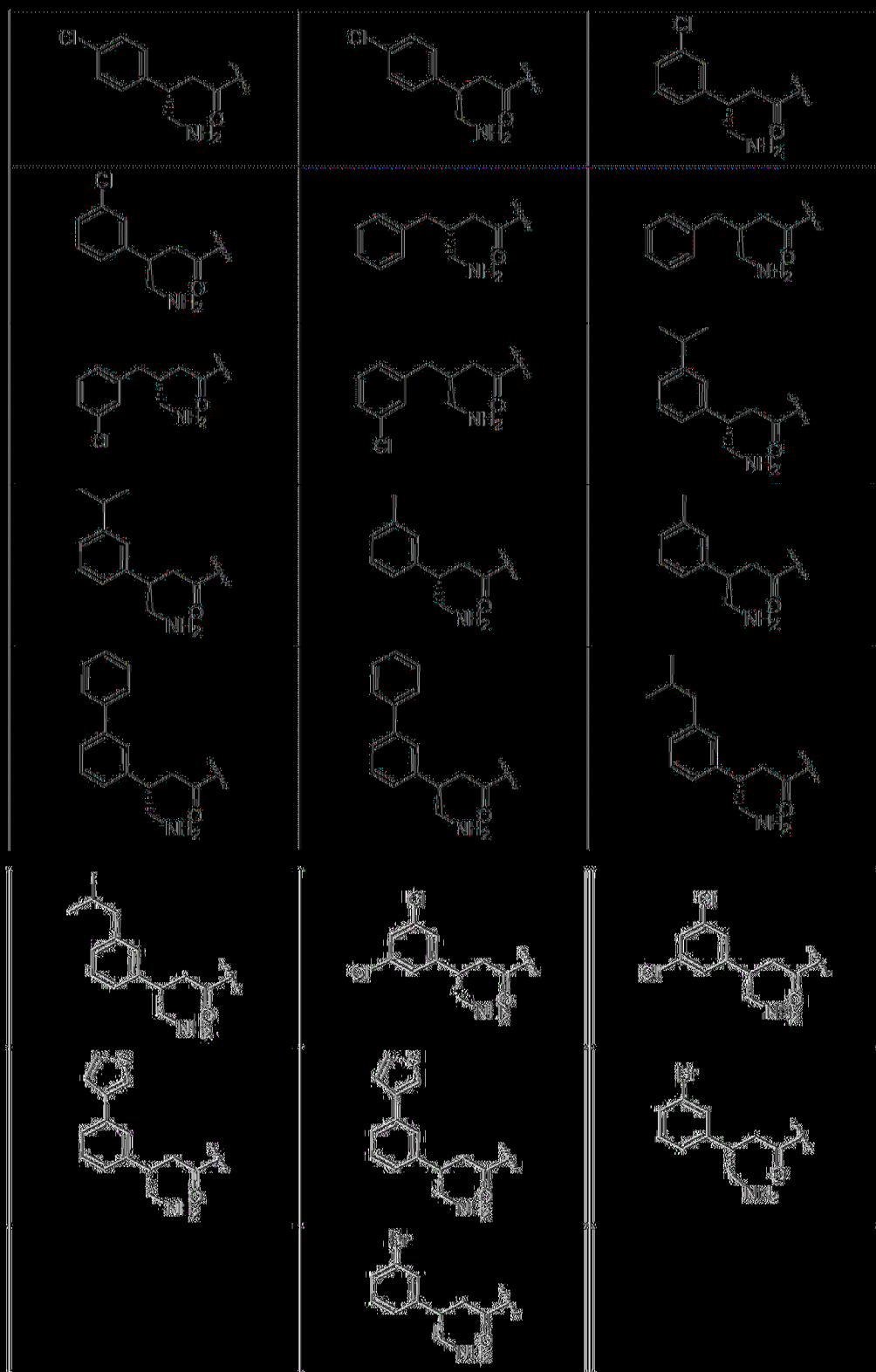
-R²與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為L-白胺酸、L-胺基丁酸或L-酰胺酸殘基；

-R³為L-酰胺酸；

-R⁴為L-Dap；

-R⁸為甲基；且

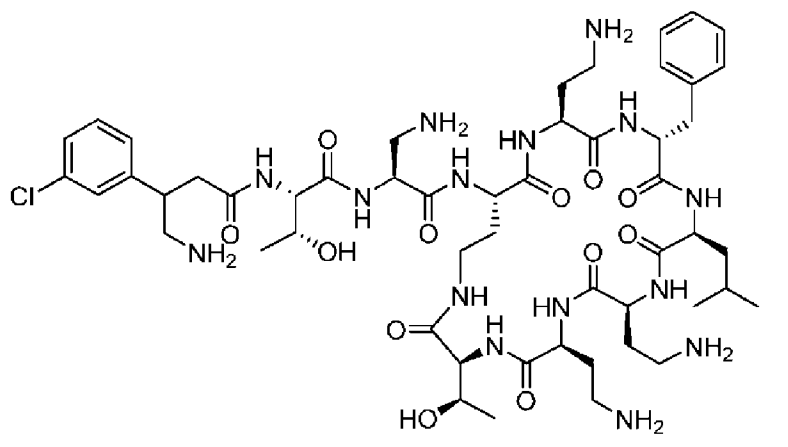
R¹⁵-X-係選自由以下各項組成之群：



及其鹽、溶劑合物、經保護形式及前藥形式。

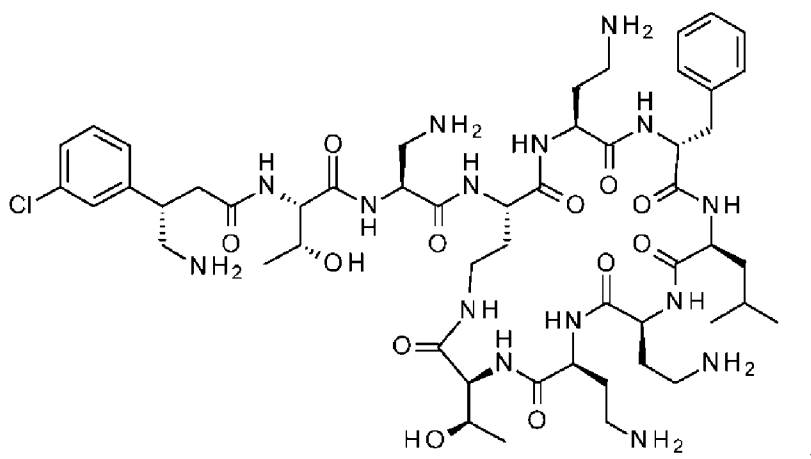
化合物(II)及化合物(III)

〔0095〕 式(I)化合物可為如以下所示之式(II)化合物：



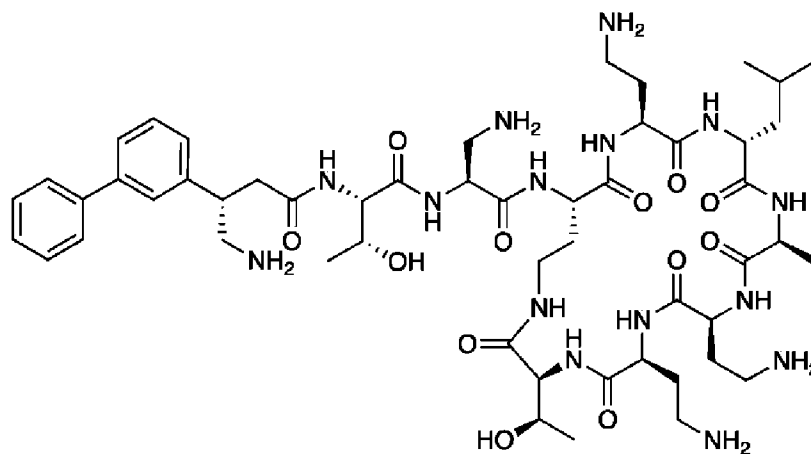
及其鹽、溶劑合物及經保護形式。

【0096】 式(I)化合物可為如以下所示之式(IIa)化合物：



及其鹽、溶劑合物及經保護形式。

【0097】 式(I)化合物可為如以下所示之式(IIb)化合物：

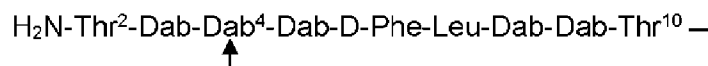


及其鹽、溶劑合物及經保護形式。

多黏菌素化合物

【0100】 用於本案之化合物係基於已知多黏菌素化合物，諸如多黏菌素B九肽及黏菌素九肽之經修飾形式。

【0101】 多黏菌素B九肽具有以下所示之結構：



其中指示第2位、第4位及第10位(參考用於多黏菌素B十肽之編號系統)，且除非指示，否則胺基酸殘基呈L-構型。

【0102】 本發明化合物為多黏菌素B九肽之衍生物，其中(i) N末端胺基-NH₂經如本文中所描述之基團-NH-X-R¹⁵置換；(ii)第3位胺基酸殘基經Dap取代；且視情況(iii)第2位、第6位及/或第7位胺基酸殘基經另一胺基酸殘基取代。

【0103】 為便利起見，本發明化合物由式(I)表示，其中第2位、第3位、第6位、第7位或第10位胺基酸分別由基團R⁸、R⁴、R¹、R²及R³之性質決定。本發明化合物，包括以上所描述之變異體，具有生物活性。

合成方法

【0104】 本發明化合物之製備對於熟習此項技術者，尤其是已知悉 WO 2015/135976 中所描述之用於製備經修飾多黏菌素九肽之方法的熟習此項技術者為熟知的。考慮到本案中所採用之新穎 N 末端基團，可容易地對此項技術中所描述之方法進行改適以用於製備本案之化合物。

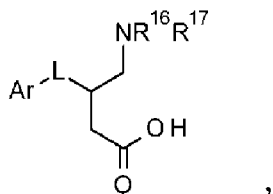
【0105】 一般而言，本發明化合物可藉由使經適當保護之多黏菌素九肽中間物與具有基團 -R¹⁵ 之羧酸偶聯來製備。此反應之產物典型地為式(I)化合物之經保護形式。可視需要進行保護基移除。此為自 WO 2015/135976 獲知之一般策略。

【0106】 經適當保護之九肽中間物本身可根據 WO 2015/135976 中所示之方法來製備。如本文中所描述，亦可藉由固相合成線性九肽，繼而自固體載體裂解線性形式，隨後使該線性形式在第 4 位與第 10 位胺基殘基之間環化來製備經適當保護之九肽中間物。

【0107】 可使用熟習此項技術者已知的方法藉由習知肽合成來製造本發明化合物。適合之方法包括固相合成，諸如以下文獻所描述：de Visser 等人，*J. Peptide Res*, **61**, 2003, 298-306；Vaara 等人，*Antimicrob. Agents and Chemotherapy*, **52**, 2008, 3229-3236；或 Velkov 等人，*ACS Chem. Biol.* **9**, 2014, 1172。此等方法包括適合之保護策略及用於環化步驟之方法。

【0108】 在需要時，可將式(I)化合物至少部分純化，例如以分離產物之非對映異構形式。

【0109】 在本發明之另一態樣中，提供一種式(X)化合物：



其中：

- R¹⁶ 為氫；

- R¹⁷ 為氫；

- L - 為共價鍵或亞甲基；

- Ar 為視情況經取代之芳基，諸如經取代之苯基及其鹽、溶劑合物、經保護形式及活化形式。

【0110】 式(X)化合物得以用於製備式(I)化合物。典型地，使化合物(X)，諸如呈其經保護形式，與式(XI)之經保護多黏菌素九肽偶合，以產生式(I)化合物之經保護形式。

【0111】 式(I)化合物相關於基團 - L - 及 - Ar 之實施例亦適用於式(X)化合物。

【0112】 典型地，胺基官能基，亦即基團 - NR¹⁶R¹⁷ 經保護。

在一個實施例中，式(X)化合物中之胺基官能基經 Boc 或 CBZ 保護。此處，-R¹⁶ 為氫且 -R¹⁷ 為 -C(O)O-t-Bu 或 -C(O)O-Bn。

【0113】式(XI)化合物為式(I)化合物，但基團 $R^{15}-X-$ 為氫，及其鹽、溶劑合物及經保護形式。

【0114】式(I)化合物相關於基團 $-R^1$ 、 $-R^2$ 、 $-R^3$ 、 $-R^4$ 及 $-R^8$ 之所選實施例亦適用於式(XI)化合物。

【0115】式(XI)化合物典型地經保護，且更特定言之，第3位、第5位、第8位及第9位胺基酸殘基側鏈中之胺基，例如第3位、第5位、第8位及第9位之胺基酸各自經Boc保護或經CBZ保護，且第2位及視情況第10位之胺基酸殘基側鏈中之羥基經保護，例如此等胺基酸中之每一者均經tBu保護。

【0116】可使用習知醯胺偶合條件使式(X)之羧酸化合物與式(XI)之胺基化合物偶合。式(X)化合物可呈活化形式使用，該形式可原位產生，以便與式(XI)化合物反應。

【0117】活化形式可藉由在視情況於鹼存在下進行之醯胺鍵形成反應中適當選擇偶合劑而原位產生。

【0118】式(X)之羧酸可藉由標準活化劑(諸如碳化二亞胺，諸如DIC(N,N' -二異丙基碳化二亞胺)或EDCI(水溶性碳化二亞胺；1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺)之反應來活化。該酸之活化形式為O-醯基異脲。

【0119】羧酸可藉由羥基苯并三唑或羥基氮雜苯并三唑，諸如HOBt(1-羥基-苯并三唑)或HOAt(1-羥基-7-氮雜-苯并三唑)加以活化。該酸之活化形式為酯。

【0120】 酯可經由碳化二亞胺活化形式形成，或其可由羧酸直接形成，例如使用適當的試劑，諸如 HATU、HBTU、PyBOP、PyBROP 或 TBTU。

【0121】 可存在用於形成活化形式之有機鹼，諸如 DIPEA 或 TEA。

經保護形式

【0122】 本發明化合物，諸如式(I)、式(II)及式(III)化合物，可呈經保護形式提供。此處，可掩蔽反應性官能基，諸如胺基官能基，以防止其在合成步驟期間反應。提供保護基以掩蔽反應性官能基，且可在合成之稍後階段移除此保護基以露出原始反應性官能基。

【0123】 在一個實施例中，經保護形式為其中胺基、羥基、硫醇及/或羧基官能基經保護基保護(掩蔽)之化合物。在一個實施例中，經保護形式為其中用化合物保護胺基酸殘基之側鏈官能基的化合物。

【0124】 在式(I)、式(II)及式(III)之化合物中，第5位、第8位及第9位之胺基酸殘基為 Dab 殘基，且 Dab 殘基之側鏈包括胺基官能基。各 Dab 殘基之胺基酸官能基可如本文中所描述用胺基保護基加以保護。類似地，第3位胺基酸殘基為 Dap，且此胺基酸殘基之側鏈包括胺基官能基。

【0125】 基團 -R¹⁵ 含有呈基團 -R¹⁶R¹⁷ 形式之胺基官能基，例如，其中 -R¹⁶ 及 -R¹⁷ 中之每一者皆為氫。該胺基官能基可如本文中所描述用胺基保護基加以保護。

【0126】 保護基，諸如胺基酸殘基之保護基，在此項技術中眾所周知且已充分描述。

【0127】 具有側基保護之胺基酸視情況連同胺基及羧基保護可購自市面。因而，經保護之多黏菌素化合物可由經適當保護之胺基酸起始物質製備。

【0128】 Velkov 等人描述在固相上使用經適當保護之胺基酸逐步製備多黏菌素化合物。揭示酰胺酸及 Dab 之經保護形式之用途(參見補充資訊)。

【0129】 在使用保護基時，可在實質上不破壞多黏菌素核心結構之條件，例如不改變胺基酸殘基之立體化學性質的條件下將其移除。

【0130】 在一個實施例中，保護基為酸不穩定的、鹼不穩定的或在還原條件下可移除的。

【0131】 用於胺基官能基之實例保護基包括 Boc (三級丁氧基羰基)、Bn (苯甲基, Bzl)、CbZ (苯甲氧基羰基, Z)、2-CL-Z (2-氯)、ivDde (1-[4,4-二甲基-2,6-二側氧基環己-1-亞基]-3-甲基丁基)、Fmoc (芴基甲氧基羰基)、HSO₃-Fmoc (磺醯基化 Fmoc, 諸如 2-磺醯基-Fmoc, 如 Schechter 等人, *J. Med Chem* 2002, 45 (19) 4264 中所描述)、Dde (1-[4,4-二甲基-2,6-二側氧基環己-1-亞基]乙基)、Mmt (4-甲氧基三苯甲基)、Mtt (4-甲基三苯甲基)、Nvoc (6-硝基藜蘆醯基羰基)、Tfa (三氟乙醯基)及 Alloc (烯丙氧基羰基)。

【0132】 用於芳族氮官能基之實例保護基包括 Boc、Mtt、Trt 及 Dnp (二硝基苯基)。

【0133】 在一個實施例中，用於胺基官能基之保護基係選自 Boc、ivDde、CbZ、Bn 及 Fmoc 以及 HSO₃-Fmoc。

在一個實施例中，用於胺基官能基之保護基為 Boc、ivDde、Fmoc 或 CbZ，諸如 Boc、ivDde 或 Cbz。

【0134】 可針對第5位、第8位及第9位以及視情況第3位所存在之胺基酸殘基之側鏈中所存在的胺基官能基提供 Boc 保護。

【0135】 用於羥基官能基之實例保護基包括 Trt (三苯甲基)、Bn (苯甲基) 及 tBu (三級丁基)。

在一個實施例中，用於羥基官能基之保護基為 tBu。

【0136】 其他實例保護基包括矽烷基醚保護基，諸如 TMS、TES、TBS、TIPS、TBDMS 及 TBDPS。該等保護基團可用例如 TBAF 移除。

【0137】 用於羧基官能基之實例保護基包括 Bn (苯甲基，Bz)、tBu (三級丁基)、TMSET (三甲基矽烷基乙基) 及 Dmab ({1-[4,4-二甲基-2,6-二側氧基環己-1-亞基]-3-甲基丁基}胺基苯甲基)。

【0138】 用於芳族氮官能基(例如此類官能基存在於基團-Ar中)之實例保護基包括 Boc、Mtt、Trt 及 Dnp (二硝基苯基)。

【0139】 在一些實施例中，僅保護某些類型之官能基。舉例而言，可僅保護胺基，諸如胺基酸殘基側鏈中之胺基。

【0140】 在一個實施例中，保護胺基及羥基。

Log P

【0141】 本發明化合物，諸如式(I)、式(II)或式(III)化合物，可具有在一定限度內之分配係數，諸如表示為Log P值。分配係數可指示化合物之親脂性。

【0142】 諸位發明人已確定具有較高親脂性之化合物具有不良細胞毒性。本發明化合物典型地具有與較低細胞毒性相關之Log P值，諸如以下所描述之Log P值。

【0143】 化合物之Log P值可憑實驗確定(例如藉由使化合物分配在辛醇與水之間)，或其可使用標準計算方法預測。

【0144】 舉例而言，提及Log P可為提及ALog P，後者可使用Ghose等人，*J. Phys. Chem. A*, 1998, 102, 3762-3772所描述之方法來確定，該文獻之內容係以引用之方式整體併入本文中。因而，ALog P為Log P之高斯(Ghose)/克里彭(Crippen)基團貢獻估計值。

【0145】 在一個實施例中，化合物之Log P值，諸如ALog P值為至少為-6.5、至少-6.6、至少-6.7、至少-6.8、至少-6.9、至少-7.0、至少-7.5或至少-8.0。在一個實施例中，化合物之Log P值，諸如ALog P值為至多-6.4、至多-6.3、至多-6.2、至多-6.1、至多-6.0、至多-5.9或至多-5.8。

【0146】 在一個實施例中，化合物之 Log P 值在具有適當地選自以上所提供之界限的上限及下限的範圍內，例如在 -5.8 至 -8.0 ，諸如 -6.0 至 -6.7 ，諸如 -6.3 至 -6.7 之範圍內。當基團 $-R^2$ 為未經取代之烷基時，可選擇此等範圍。

【0147】 在另一實施例中，化合物之 Log P 值在 -6.7 至 -7.4 之範圍內。當基團 $-R^2$ 為經一個羥基取代之烷基時，可選擇此範圍。

【0148】 發現具有在以上所論述之界限內之 Log P 值（諸如 ALog P 值）之化合物對多黏菌素敏感性及多黏菌素抗性細菌菌株具有優良活性。該等化合物可具有與多黏菌素 B 相當之抗微生物活性。有利地，該等化合物與多黏菌素 B 相比亦可具有降低之細胞毒性。

【0149】 諸位發明人已發現，可藉由選擇本案之 $-R^{15}$ 基團連同適當選擇第 6 位及 / 或第 7 位胺基酸殘基（諸如適當選擇 $-R^1$ 及 / 或 $-R^2$ ）來獲得具有最佳 Log P 值的化合物。

活性劑

【0150】 式 (I)、式 (II) 或式 (III) 化合物可各自與第二活性劑一起使用。諸位發明人已發現，該等組合具有比根據兩種化合物之單獨活性預期之生物活性更高的生物活性。式 (I)、式 (II) 或式 (III) 化合物可用於強化第二活性劑之活性。特定言之，式 (I)、式 (II) 或式 (III) 化合物

可與第二活性劑一起使用以增強該劑之抗微生物活性，例如針對革蘭氏陰性細菌。

【0151】不希望受理論束縛，認為式(I)、式(II)或式(III)化合物作用於細胞，例如革蘭氏陰性細菌細胞之外膜，從而促進第二活性劑攝入該細胞中。因此，否則在越過外膜方面不能勝任或不良之劑可在式(I)、式(II)或式(III)化合物之作用下吸收至靶細胞中。

【0152】在一個實施例中，式(I)、式(II)或式(III)化合物與第二活性劑之組合對革蘭氏陰性細菌具有活性。此處，不必需該式(I)、式(II)或式(III)化合物抑或該第二活性劑單獨對革蘭氏陰性細菌具有活性。

【0153】在一個實施例中，該第二活性劑為對特定微生物(諸如細菌)具有低於10、低於5或低於1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之量測MIC值的劑。該微生物可為革蘭氏陰性細菌，諸如選自由以下組成之群的革蘭氏陰性細菌：大腸桿菌、腸道沙門氏菌(*S. enterica*)、肺炎克雷伯氏桿菌(*K. pneumoniae*)、產酸克雷伯氏桿菌(*K. oxytoca*)、陰溝腸桿菌(*E. cloacae*)、產氣腸桿菌(*E. aerogenes*)、聚團腸桿菌(*E. agglomerans*)、醋酸鈣不動桿菌(*A. calcoaceticus*)、鮑氏不動桿菌(*A. baumannii*)；綠膿桿菌及嗜麥芽窄食單胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)。

【0154】對革蘭氏陰性細菌具有活性之第二活性劑的實例包括 β -內醯胺、四環素、胺基糖苷及喹諾酮。

【0155】 在一個實施例中，該第二活性劑為對特定微生物（諸如革蘭氏陰性細菌）具有超過4、超過8、超過16或超過32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之量測MIC值的劑。在此實施例中，該第二活性劑可對革蘭氏陽性細菌具有活性。舉例而言，該第二活性劑為對特定革蘭氏陽性細菌具有低於10、低於5或低於1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之量測MIC值的劑。此處，式(I)、式(II)或式(III)化合物用於促進第二活性劑攝入革蘭氏陰性細菌細胞中。第二活性劑因此能夠作用於革蘭氏陰性細菌細胞內之標靶，該標靶可與革蘭氏陽性細菌細胞中之第二活性劑標靶相同。

【0156】 革蘭氏陽性細菌可選自由以下組成之群：葡萄球菌屬及鏈球菌屬細菌，諸如金黃色葡萄球菌 (*S. aureus*)（包括MRSA）、表皮葡萄球菌 (*S. epidermis*)、糞腸球菌 (*E. faecalis*)及屎腸球菌 (*E. faecium*)。

【0157】 對革蘭氏陽性細菌具有活性（例如，在以上所提供之MIC值下）且對革蘭氏陰性細菌具有中等活性之第二活性劑之實例包括利放平 (*rifampicin*)、新生黴素 (*novobiocin*)、巨環內酯、截短側耳素 (*pleuromutilin*)。在一個實施例中，對革蘭氏陰性細菌具有中等活性之化合物可對革蘭氏陰性細菌具有低於32、低於64或低於128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之量測MIC值。

【0158】 亦適合使用對革蘭氏陽性細菌具有活性且對革蘭氏陰性細菌基本上無活性之劑。實例包括梭鏈孢酸

(fusidic acid)、噁唑啉(例如利奈唑胺(linezolid)、糖肽(例如萬古黴素(vancomycin)、達托黴素(daptomycin)及羊毛硫抗生素(lantibiotic)。在一個實施例中,對革蘭氏陰性細菌基本無活性之化合物可對革蘭氏陰性細菌具有超過32、超過64、超過128、超過256 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之量測MIC值。

【0159】 在正常情形下,該等劑不必要適用於抗革蘭氏陰性細菌,因為其越過革蘭氏陰性細菌細胞外膜之能力相對不佳。如以上所解釋,當與式(I)、式(II)或式(III)化合物一起使用時,該等劑適合使用。

【0160】 在一個實施例中,活性劑可選自由以下組成之群:利放平(利福平)、利福布汀(rifabutin)、利福拉齊(rifalazil)、利福噴汀(rifapentine)、利福昔明(rifaximin)、氮烯內醯胺(aztreonam)、扼噠西林(oxacillin)、新生黴素(novobiocin)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、阿奇黴素(azithromycin)、賽普沙辛(ciprofloxacin)、美羅培南(meropenem)、替加環素(tigecycline)、米諾環素(minocycline)、紅黴素(erythromycin)、克拉黴素(clarithromycin)及莫匹羅星(mupirocin)及其醫藥學上可接受之鹽、溶劑化合物及前藥形式。

【0161】 諸位發明人已發現式(I)、式(II)或式(III)之多黏菌素化合物可與利福黴素家族中之某些化合物一起用於治療微生物感染。利福黴素家族包括分離物利福黴

素 A、B、C、D、E、S 及 SV，以及此等化合物之合成衍生型式，諸如利放平(利福平)、利福布汀、利福拉齊、利福噴汀及利福昔明，以及其醫藥學上可接受之鹽及溶劑合物。

【0162】 在一個實施例中，該活性劑為利放平(利福平)及其醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物及前藥形式。

鹽、溶劑合物及其他形式

【0163】 式(I)、式(II)及式(III)化合物之鹽的實例包括所有醫藥學上可接受之鹽，諸如但不限於強無機酸之酸加成鹽，諸如 HCl 及 HBr 鹽；及強有機酸加成鹽，諸如甲磺酸鹽。鹽之其他實例包括硫酸鹽及乙酸鹽，諸如乙酸鹽本身、三氟乙酸鹽或三氯乙酸鹽。

【0164】 在一個實施例中，本發明化合物呈硫酸鹽或三氟乙酸(TFA)鹽形式提供。在一個實施例中，本發明化合物呈乙酸鹽，諸如乙酸鹽形式提供。

【0165】 式(I)、式(II)或式(III)化合物亦可調配為前藥。前藥可包括本文中所描述之抗細菌化合物，其中一或多個胺基用可在活體內裂解從而釋放生物活性化合物之基團加以保護。在一個實施例中，前藥為「胺前藥」。胺前藥之實例包括如例如 Bergen 等人，Antimicrob. Agents and Chemotherapy, 2006, 50, 1953 中所描述之磺基甲基或如例如 Schechter 等人，J. Med Chem 2002, 45(19) 4264 中所描述之 HSO₃-FMOC 及其鹽。胺前藥之其他實例由 Krise 及 Oliyai,

Biotechnology: Pharmaceutical Aspects, 2007, 5(2), 101-131 提供。

【0166】 在一個實施例中，式(I)、式(II)或式(III)化合物提供為前藥。

【0167】 提及式(I)、式(II)或式(III)化合物或本文中所描述之任何其他化合物亦係指該化合物之溶劑合物。溶劑合物之實例包括水合物。

【0168】 式(I)、式(II)或式(III)化合物或本文中所描述之任何其他化合物包括原子被天然存在或非天然存在之同位素置換的化合物。在一個實施例中，同位素為穩定同位素。因而，此處描述之化合物包括例如含氕化合物及其類似物。舉例而言，H可呈任何同位素形式，包括¹H、²H (D)及³H (T)；C可呈任何同位素形式，包括¹²C、¹³C及¹⁴C；O可呈任何同位素形式，包括¹⁶O及¹⁸O；及其類似物。

【0169】 某些式(I)、式(II)或式(III)化合物或本文中所描述之任何其他化合物可呈一或多種特定幾何異構、光學異構、對映異構、非對映異構、差向異構、同素異構、立體異構、互變異構、構形異構或變旋異構形式存在，包括但不限於順式及反式形式；E及Z形式；c、t及r形式；內型及外型；R、S及內消旋形式；D及L形式；d及l形式；(+)和(-)形式；酮、烯醇及烯醇化物形式；同及反形式；向斜及背斜形式； α 及 β 形式；軸向及赤道形

式；船形、椅形、螺旋形、封套形及半椅形；及其組合，下文統稱為「異構體」（或「異構形式」）。

【0170】 注意，以下針對互變異構形式之論述排除，特定言之，如本文中所使用之術語「異構體」中不包括結構（或組成）異構體（亦即，在原子之間的連接方面而非僅在原子空間位置方面不同的異構體）。舉例而言，提及甲氧基 -OCH₃ 不應被視為提及其結構異構體羥甲基 -CH₂OH。類似地，提及鄰氯苯基不應被視為提及其結構異構體間氯苯基。然而，提及一類結構可充分包括屬該類之結構異構形式（例如，C₁₋₆ 烷基包括正丙基及異丙基；丁基包括正丁基、異丁基、二級丁基及三級丁基；甲氧基苯基包括鄰甲氧基苯基、間甲氧基苯基及對甲氧基苯基）。

【0171】 除非另外規定，否則提及特定化合物包括所有此類異構形式，包括其混合物（例如外消旋混合物）。該等異構形式之製備（例如，不對稱合成）及分離（例如，分級結晶及層析方法）方法在此項技術中為已知的，或藉由以已知方式修改本文中所教示之方法或已知方法而容易地獲得。

【0172】 本發明之一個態樣係關於呈實質上經純化之形式及/或呈實質上不含污染物之形式的化合物。

【0173】 在一個實施例中，實質上經純化之形式為至少 50 重量%，例如至少 60 重量%，例如至少 70 重量%，例如至少 80 重量%，例如至少 90 重量%，例如至少 95 重量

%，例如至少 97 重量%，例如至少 98 重量%，例如至少 99 重量%。

【0174】 除非規定，否則實質上經純化之形式係指呈任何立體異構或對映異構形式之化合物。舉例而言，在一個實施例中，實質上經純化之形式係指立體異構體之混合物，亦即，相對於其他化合物經純化。在一個實施例中，實質上經純化之形式係指一種立體異構體，例如光學純立體異構體。在一個實施例中，實質上經純化之形式係指對映異構體之混合物。在一個實施例中，實質上經純化之形式係指對映異構體之等莫耳混合物(亦即，外消旋混合物、外消旋物)。在一個實施例中，實質上經純化之形式係指一種對映異構體，例如光學純對映異構體。

【0175】 在一個實施例中，污染物佔不超過 50 重量%，例如不超過 40 重量%，例如不超過 30 重量%，例如不超過 20 重量%，例如不超過 10 重量%，例如不超過 5 重量%，例如不超過 3 重量%，例如不超過 2 重量%，例如不超過 1 重量%。

【0176】 除非規定，否則污染物係指其他化合物，亦即，除立體異構體或對映異構體以外。在一個實施例中，污染物係指其他化合物及其他立體異構體。在一個實施例中，污染物係指其他化合物及其他對映異構體。

【0177】 在一個實施例中，實質上經純化之形式為至少 60% 光學純(亦即，以莫耳計 60% 化合物為所要立體異構體或對映異構體，且 40% 為非所要立體異構體或對映異

構體)，例如至少70%光學純，例如至少80%光學純，例如至少90%光學純，例如至少95%光學純，例如至少97%光學純，例如至少98%光學純，例如至少99%光學純。

治療方法

【0178】 式(I)、式(II)或式(III)化合物或含有此等化合物之醫藥調配物適用於治療及預防方法中。該等化合物可投與有需要之個體。該等化合物適合與活性劑(「第二活性劑」)，例如作為抗微生物劑之第二活性劑一起使用。

【0179】 式(I)、式(II)或式(III)化合物用於藉由療法治療人體或動物體之方法中。在本發明之一些態樣中，式(I)、式(II)或式(III)化合物可投與哺乳動物個體，諸如人類，以治療微生物感染。

【0180】 本發明之另一態樣係關於式(I)或式(II)化合物在製造供治療使用之藥物中的用途。在一個實施例中，該藥物包含式(I)、式(II)或式(III)化合物。在一個實施例中，該藥物係用於治療微生物感染。

【0181】 術語「微生物感染」係指病原性微生物對宿主動物之侵襲。此包括動物體內或體表上通常存在之微生物的過度生長。更一般而言，微生物感染可為微生物群體之存在正損害宿主動物的任何情況。因而，當動物體內或體表存在過量微生物群體時，或當微生物群體之存在正損害動物之細胞或其他組織時，動物正「遭受」微生物感染。

【0182】 該等化合物可用於治療患有微生物感染或處在感染微生物(諸如細菌)風險下之個體。

【0183】 微生物感染可為細菌感染,諸如革蘭氏陰性細菌感染。

【0184】 革蘭氏陰性細菌之實例包括但不限於大腸桿菌屬 (*Escherichia spp.*)、克雷伯氏桿菌屬 (*Klebsiella spp.*)、腸桿菌屬 (*Enterobacter spp.*)、沙門氏菌屬 (*Salmonella spp.*)、檸檬酸桿菌屬 (*Citrobacter spp.*) 及其他腸桿菌科 (*Enterobacteriaceae*)、假單胞菌屬 (*Pseudomonas spp.*)、不動桿菌屬 (*Acinetobacter spp.*)、窄食單胞菌屬 (*Stenotrophomonas*) 及退伍軍人桿菌屬 (*Legionella*) 以及眾多其他革蘭氏陰性細菌。

【0185】 醫學相關革蘭氏陰性桿菌包括眾多種群。其中一些主要造成呼吸問題(流感嗜血桿菌 (*Haemophilus influenzae*)、肺炎克雷伯氏桿菌、嗜肺性退伍軍人桿菌 (*Legionella pneumophila*)、綠膿桿菌)、主要尿路問題(大腸桿菌、陰溝腸桿菌 (*Enterobacter cloacae*))及主要胃腸問題(腸道沙門氏菌)。

【0186】 與醫院感染相關之革蘭氏陰性細菌包括鮑氏不動桿菌 (*Acinetobacter baumannii*)，其引起醫院機構重症監護病房中之菌血症、繼發性腦膜炎及呼吸機相關性肺炎。

【0187】 在一個實施例中，革蘭氏陰性細菌種群係選自大腸桿菌、腸道沙門氏菌、肺炎克雷伯氏桿菌、產酸克雷伯氏桿菌、陰溝腸桿菌、產氣腸桿菌、聚團腸桿菌、醋酸鈣不動桿菌、鮑氏不動桿菌、綠膿桿菌及嗜麥芽窄食單胞菌。

【0188】 在一個實施例中，革蘭氏陰性細菌種群係選自由以下組成之群：大腸桿菌、肺炎克雷伯氏桿菌、綠膿桿菌及鮑氏不動桿菌。

【0189】 式(I)、式(II)或式(III)化合物或包含其之組合物可用於治療皮膚及軟組織感染、胃腸感染、尿路感染、肺炎、敗血症、腹腔內感染及產科/婦科感染。該等感染可為革蘭氏陰性細菌感染。

【0190】 式(I)、式(II)或式(III)化合物或包含其之組合物可用於治療假單胞菌感染(包括綠膿桿菌感染，例如皮膚及軟組織感染)、胃腸感染、尿路感染、肺炎及敗血症。

【0191】 式(I)、式(II)或式(III)化合物或包含其之組合物可用於治療不動桿菌感染(包括鮑氏桿菌感染)、肺炎、創傷感染、尿路感染及敗血症。

【0192】 式(I)、式(II)或式(III)化合物或包含其之組合物可用於治療克雷伯氏桿菌感染(包括肺炎克雷伯氏桿菌感染)、肺炎、腹膜內感染、尿路感染、腦膜炎及敗血症。

【0193】 式(I)、式(II)或式(III)化合物或包含其之組合物可用於治療大腸桿菌感染(包括大腸桿菌感染)、菌血症、膽囊炎、膽管炎、腹膜內感染、尿路感染、新生兒腦膜炎及肺炎。

【0194】 式(I)、式(II)或式(III)化合物或包含其之組合物可與活性劑一起用於治療方法中。

【0195】 活性劑可為對微生物具有活性之劑。活性劑可對革蘭氏陰性細菌具有活性。活性劑可對選自以上所提供之清單的微生物具有活性。

【0196】 在一個實施例中，第二活性劑在不存在式(I)、式(II)或式(III)化合物之情況下對諸如大腸桿菌之微生物具有10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更低之MIC值。微生物可為選自以上群組之微生物。

【0197】 用作第二活性劑之特定化合物描述於本文中且包括：

利放平、利福布汀、利福拉齊、利福噴汀及利福昔明；
扼噠西林、美西西林(methicillin)、安比西林(ampicillin)、氯坐西林(cloxacillin)、卡本西林(carbenicillin)、必倍西林(piperacillin)、曲卡西林(tricarcillin)、氟氯噠西林(flucloxacillin)及萘夫西林(nafcillin)；

阿奇黴素、克拉黴素、紅黴素、泰利黴素(telithromycin)、賽紅黴素(cethromycin)及索利黴素(solithromycin)；

氮烯內醯胺及 BAL30072；

美羅培南、多尼培南(doripenem)、亞胺培南(imipenem)、厄他培南(ertapenem)、比阿培南(biapenem)、托莫培南(tomopenem)及帕尼培南(panipenem)；

替加環素(tigecycline)、奧馬環素(omadacycline)、呃伐環素(eravacycline)、多西環素(doxycycline)及米諾環素(minocycline)；

賽普沙辛(ciprofloxacin)、左氧氟沙星(levofloxacin)、莫西沙星(moxifloxacin)及德拉沙星(delafloxacin)；

梭鏈孢酸；

新生黴素；

替考拉寧(teichoplanin)、替拉萬星(telavancin)、達巴萬星(dalbavancin)及奧利萬星(oritavancin)，及其醫藥學上可接受之鹽及溶劑合物；

【0198】 在一個實施例中，用作第二活性劑之特定化合物描述於本文中且包括利放平(利福平)、利福布汀、利福拉齊、利福噴汀、利福昔明、氮烯內醯胺、扼噠西林、新生黴素、梭鏈孢酸、阿奇黴素、賽普沙辛、美羅培南、替加環素、紅黴素、克拉黴素及莫匹羅星，及其醫藥學上可接受之鹽及溶劑合物。

【0199】 在一替代態樣中，式(I)化合物適用於治療真菌感染，例如與抗真菌劑組合在一起。抗真菌劑可選自聚

烯抗真菌劑，例如兩性黴素B、咪唑、三唑或噻唑抗真菌劑，例如美可那唑(miconazole)、氟康那唑(flucanazole)或阿巴芬寧(abafungin)、烯丙胺、棘白菌素(echinocandin)或另一劑，例如環吡酮胺。

治療

【0200】如本文中在治療病狀之情形下使用之術語「治療」一般係關於治療及療法，無論是人類或動物(例如，在獸醫應用中)，其中達成一些所要治療效果，例如抑制病狀進展，且包括進展速率減緩、進展速率停止、病狀之症狀緩解、病狀改善及病狀治癒。亦包括作為預防性措施之治療(亦即，預防)。舉例而言，術語「治療」涵蓋用於尚未罹患病狀但處在罹患病狀之風險下的患者。

【0201】如本文中所使用之術語「治療有效量」係關於化合物或者包含化合物之材料、組合物或劑型的量，其在根據所要治療方案投與時對產生一定的所要治療效果有效，與合理益處/風險比相稱。

【0202】術語「治療」包括如本文中所描述之組合治療及療法，其中將兩種或更多種治療或療法組合，例如順序或同時。

組合療法

【0203】式(I)、式(II)或式(III)化合物可與活性劑聯合投與。投與可為同時、獨立或順序的。

【0204】投與方法及方式將視式(I)、式(II)或式(III)化合物及第二活性劑之藥物動力學性質而定。

【0205】 「同時」投與意謂式(I)、式(II)或式(III)化合物及第二活性劑以單一劑量藉由相同投與途徑投與個體。

【0206】 「單獨」投與意謂式(I)、式(II)或式(III)化合物及第二活性劑藉由同時發生的兩種不同的投與途徑投與個體。舉例而言，此可在藉由輸注投與一種劑而在輸注過程中經口給與另一劑之情況下發生。

【0207】 「順序」意謂在不同的時間點投與兩種劑，條件為首先投與之劑的活性在投與第二活性劑時存在於個體中並持續。

【0208】 一般而言，將發生順序給藥以使得兩種劑中的第二種在第一劑之48小時內，諸如在24小時內，諸如在12、6、4、2或1小時內投與。替代地，可首先投與活性劑，繼之以式(I)、式(II)或式(III)化合物。

【0209】 最終，在組合治療中投與化合物及第二活性劑之順序及時機將視各自之藥物動力學性質而定。

【0210】 投與個體之式(I)、式(II)或式(III)化合物之量最終將視個體之性質及欲治療之疾病而定。同樣，投與個體之活性劑的量最終將視個體之性質及欲治療之疾病而定。

調配物

【0211】 在一個態樣中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含式(I)、式(II)或式(III)化合物以及醫藥學上可接受之載劑。該醫藥組合物可另外包含第二活性劑。在一替

代實施例中，其中提供第二活性劑以供療法使用，該第二活性劑可與式(I)、式(II)或式(III)化合物分開調配。在分開調配時，以下關於式(I)、式(II)或式(III)化合物作出之註解因此亦可適用於第二活性劑。

【0212】 儘管式(I)、式(II)或式(III)化合物可單獨或與第二活性劑一起投與，但希望將其提供為包含至少一種如本文中所描述之式(I)、式(II)或式(III)化合物以及熟習此項技術者熟知的一或多種其他醫藥學上可接受之成分，包括但不限於醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑、佐劑、填充劑、緩衝劑、防腐劑、抗氧化劑、潤滑劑、穩定劑、增溶劑、表面活性劑(例如潤濕劑)、掩蔽劑、著色劑、調味劑及甜味劑的醫藥調配物(例如，組合物、製劑、藥物)。調配物可進一步包含其他活性劑，例如其他治療劑或預防劑。

【0213】 因而，本發明進一步提供如以上所定義之醫藥組合物以及製造醫藥組合物之方法，包括將至少一種如本文中所描述之式(I)、式(II)或式(III)化合物與熟習此項技術者熟知的一或多種其他醫藥學上可接受之成分(例如載劑、稀釋劑、賦形劑等)混合。若調配為離散單元(例如錠劑等)，則各單元含有預定量(劑量)之化合物。該組合物視情況進一步包含預定量之第二活性劑。

【0214】 如本文中所使用之術語「醫藥學上可接受」係關於化合物、成分、材料、組合物、劑型等，其在合理醫藥學判斷之範疇內，適用於與所論述之個體(例如人類)之組

織接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症，與合理利益/風險比相稱。各載劑、稀釋劑、賦形劑等在與調配物之其他成分相容的意義上亦必須為「可接受的」。

【0215】適合之載劑、稀釋劑、賦形劑等可見於標準醫藥文件中，例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990；及 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第5版, 2005。

【0216】可藉由製藥領域中熟知的任何方法來製備調配物。該等方法包括使式(I)或式(II)化合物與構成一或多種輔助成分之載劑締合的步驟。一般而言，調配物係藉由使本發明化合物與載劑(例如液體載劑、細粉狀固體載劑等)均勻且密切地締合，隨後在必要時對產物進行成形來製備。

【0217】可製備調配物以提供快速或緩慢釋放；立即、延遲、定時或持續釋放；或其組合。

【0218】調配物可適當地呈液體、溶液(例如，水性、非水性)、懸浮液(例如水性、非水性)、乳液(例如，水包油、油包水)、酏劑、糖漿、舐劑、漱口劑、滴劑、錠劑(包括例如包衣錠劑)、顆粒劑、粉劑、口含錠、軟錠劑、膠囊(包括例如硬及軟明膠膠囊)、扁囊劑、丸劑、安瓿、藥團、栓劑、子宮托、酹劑、凝膠、糊劑、軟膏、乳膏、乳液、油劑、泡沫劑、噴霧劑、霧劑或氣溶膠形式。

【0219】 調配物可適當地提供為浸漬有一或多種化合物及視情況選用之一或多種其他醫藥學上可接受之成分，包括例如穿透、滲透及吸收增強劑的貼片、絆創膏、繃帶、敷料或其類似物。調配物亦可適當地呈貯庫或儲器形式提供。

【0220】 化合物可溶解、懸浮於一或多種其他醫藥學上可接受之成分中或與其混合。該化合物可存在於設計用於使化合物靶向例如血液組分或者一或多個器官的脂質體或其他微粒中。在使用脂質體之情況下，應注意脂質體可含有式(I)、式(II)、式(III)化合物及第二活性劑。

【0221】 適於經口投與(例如，藉由攝取)之調配物包括液體、溶液(例如，水性、非水性)、懸浮液(例如，水性、非水性)、乳液(例如，水包油、油包水)、酏劑、糖漿、舐劑、錠劑、顆粒劑、粉劑、膠囊劑、扁囊劑、丸劑、安瓿、藥團。

【0222】 適於經口腔投與之調配物包括漱口劑、口含錠、軟錠劑以及貼片、絆創膏、貯庫及儲器。口含錠典型地包含處於調味基質，通常為蔗糖及阿拉伯膠或黃蓍膠中之化合物。軟錠劑典型地包含處於惰性基質，諸如明膠及甘油或蔗糖及阿拉伯膠中之化合物。漱口劑典型地包含處於適合之液體載劑中的化合物。

【0223】 適用於舌下投與之調配物包括錠劑、口含錠、軟錠劑、膠囊劑及丸劑。

【0224】 適於經口經黏膜投與之調配物包括液體、溶液(例如，水性、非水性)、懸浮液(例如，水性、非水性)、乳液(例如，水包油、油包水)、漱口劑、口含錠、軟錠劑以及貼片、絆創膏、貯庫及儲器。

【0225】 適於非經口經黏膜投與之調配物包括液體、溶液(例如，水性、非水性)、懸浮液(例如，水性、非水性)、乳液(例如，水包油、油包水)、栓劑、子宮托、凝膠劑、糊劑、軟膏、乳膏劑、洗液、油劑以及貼片、絆創膏、貯庫及儲器。

【0226】 適於經皮投與之調配物包括凝膠劑、糊劑、軟膏、乳膏劑、洗液及油劑，以及貼片、絆創膏、繃帶、敷料、貯庫及儲器。

【0227】 錠劑可藉由視情況與一或多種輔助成分一起進行習知手段，例如壓製或模製來製造。壓製錠劑可藉由在適合之機器中對呈自由流動形式(諸如粉末或顆粒)之視情況與一或多種黏合劑(例如聚維酮、明膠、阿拉伯膠、山梨糖醇、黃蓍膠、羥丙基甲基纖維素)、填充劑或稀釋劑(例如乳糖、微晶纖維素、磷酸氫鈣)、潤滑劑(例如硬脂酸鎂、滑石、二氧化矽)、崩解劑(例如，澱粉乙醇酸鈉、交聯聚維酮、交聯羧甲基纖維素鈉)、表面活性劑或分散劑或潤濕劑(例如月桂基硫酸鈉)、防腐劑(例如對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、山梨酸)、調味劑、增味劑及甜味劑混合之化合物進行壓製來製備。模製錠劑可藉由在適合之機器中對經惰性液體稀釋劑潤濕之粉末狀化

合物之混合物進行模製來製造。錠劑可視情況包覆或刻痕，且可為了提供所要釋放概況而使用例如不同比例之羥丙基甲基纖維素進行調配以提供其中化合物之緩慢或控制釋放。錠劑可視情況提供有包覆層，例如以影響釋放，例如腸溶衣，以便在除胃以外之腸部分中提供釋放。

【0228】軟膏典型地由化合物及石蠟或水混溶性軟膏基質製備。

【0229】乳膏典型地由化合物及水包油乳膏基質製備。若需要，則乳膏基質之水相可包括例如至少約30% w/w 多元醇，亦即，具有兩個或更多個羥基之醇，諸如丙二醇、丁-1,3-二醇、甘露醇、山梨糖醇、甘油及聚乙二醇及其混合物。局部調配物可理想地包括增強化合物經皮膚或其他受影響區域之吸收或穿透的化合物。此種皮膚穿透增強劑之實例包括二甲亞砷及相關類似物。

【0230】乳液典型地由化合物及油相製備，該油相可視情況僅包含乳化劑(或稱為利泄劑)，或其可包含至少一種乳化劑與脂肪或油或與脂肪及脂肪二者之混合物。可包括親水性乳化劑連同充當穩定劑之親脂性乳化劑。亦可能包括油及脂肪二者。總之，含或不含穩定劑之乳化劑組成所謂的乳化蠟，且該蠟與油及/或脂肪一起組成所謂的乳化軟膏基質，其形成乳膏調配物之油性分散相。

【0231】適合之利泄劑及乳液穩定劑包括 Tween 60、Span 80、鯨蠟硬脂醇、肉豆蔻醇、單硬脂酸甘油酯及月桂基硫酸鈉。用於調配物之適合油或脂肪之選擇係

基於達成所要化妝品性質，因為化合物在可能用於醫藥乳液調配物之大部分油中的溶解度可能非常低。因而，乳膏應為不油膩、無污染且可洗滌之產品，其具有適合之稠度以避免自管或其他容器滲漏。可使用直鏈或支鏈單烷基或二元烷基酯，諸如二異己二酸酯、硬脂酸異十六烷基酯、可可脂肪酸丙二醇二酯、肉豆蔻酸異丙酯、油酸癸酯、棕櫚酸異丙酯、硬脂酸丁酯、棕櫚酸 2-乙基己酯或稱為 **Crodamol CAP** 之支鏈酯摻合物。此等可單獨或組合使用，視所要性質而定。替代地，可使用高熔點脂質，諸如白色軟石蠟及 / 或液體石蠟或其他礦物油。

【0232】 適於經鼻內投與之調配物在載劑為液體之情況下包括例如鼻用噴霧、滴鼻劑或藉由以噴霧器進行氣霧劑投與，包括化合物之水性或油性溶液。作為替代投與方法，可使用乾粉遞送作為霧化氣霧劑之替代。

【0233】 適於鼻內投與之調配物在載劑為固體之情況下包括例如提供為具有例如在約 20 至約 500 微米範圍內之粒度的粗粉末的彼等調配物，以吸取鼻煙，亦即，藉由經鼻通道自保持在鼻子附近之粉末容器中快速吸入的方式投與。

【0234】 適於經肺投與（例如，藉由吸入或吹入療法）之調配物包括提供為來自加壓包裝之氣霧劑噴霧且使用適合之推進劑，諸如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他適合之推進劑的彼等調配物。另外地或替代地，用於經肺投與之調配物可經調配以便自噴

霧器或乾粉吸入器投與。舉例而言，調配物可與載劑或脂質體一起提供以便提供適合之粒度以達到肺之適當部分，以便輔助遞送適當劑量，從而增強在肺組織中之滯留。

【0235】 適於經眼投與之調配物包括滴眼劑，其中化合物溶解或懸浮於適合之載劑，尤其是針對化合物之水性溶劑中。

【0236】 適於經直腸投與之調配物可提供為具有包含例如天然或硬化油、蠟、脂肪、半液體或液體多元醇，例如可可脂或水楊酸鹽之適合基質的栓劑，或提供為供藉由灌腸進行治療用之溶液或懸浮液。

【0237】 適於經陰道投與之調配物可提供為除化合物以外亦含有諸如此項技術中已知適當之載劑的子宮托、棉塞、乳膏劑、凝膠劑、糊劑、泡沫劑或噴霧劑調配物。

【0238】 適於非經腸投與(例如，藉由靜脈內或皮下注射或輸注)之調配物包括水性或非水性等滲無熱原無菌液體(例如溶液、懸浮液)，其中化合物被溶解、懸浮或以其他方式提供(例如，在脂質體或其他微粒中)。此種液體可另外含有其他醫藥學上可接受之成分，諸如抗氧化劑、緩衝劑、防腐劑、穩定劑、抑細菌劑、懸浮劑、增稠劑及致使調配物與預定接受者之血液(或其他相關體液)等滲透壓之溶質。賦形劑之實例包括例如水、醇、糖、多元醇、甘油、植物油及其類似物。用於此種調配物中之適合等滲透壓載劑之實例包括氯化鈉注射液、林格氏溶液或乳酸化林格氏注射液。典型地，液體中之化合物濃度為約 1

ng/mL 至約 500 μ g/mL，例如約 1 ng/mL 至約 100 μ g/mL，例如約 10 ng/mL 至約 10 μ g/mL，例如約 10 ng/mL 至約 1 μ g/mL。調配物可存在於單位劑量或多劑量密封容器中，例如安瓿及小瓶，且可儲存在冷凍乾燥(凍乾)條件下，從而僅需要在臨使用前添加無菌液體載劑，例如注射用水。可由無菌粉劑、顆粒劑及錠劑來製備臨時注射溶液及懸浮液。

劑量

【0239】 一般而言，本發明之方法可包括向個體投與有效量之式(I)、式(II)或式(III)化合物，以提供抗微生物效果。式(I)、式(II)或式(III)化合物可以足以強化第二活性劑之活性的量投與。第二活性劑以有效量投與個體以提供抗微生物效果。

【0240】 熟習此項技術者應瞭解，式(I)、式(II)或式(III)化合物或活性劑及包含式(I)、式(II)或式(III)化合物或活性劑之組合物的適當劑量可因患者而異。確定最佳劑量一般將涉及平衡治療益處水準與任何風險或不利副作用。所選擇之劑量水準將視多種因素而定，包括但不限於特定式(I)、式(II)或式(III)化合物或活性劑之活性、投與途徑、投與時間、化合物之排泄速率、治療之持續時間、組合使用之其他藥物、化合物及/或材料、病狀之嚴重程度以及患者之物種、性別、年齡、體重、病狀、一般健康狀況及既往病史。式(I)、式(II)或式(III)化合物或活性劑之量及投與途徑最終將由醫生、獸醫或臨床醫

生決定，但一般將選擇可在作用部位實現達成所要效果而不引起實質性有害或不利副作用的局部濃度的劑量。

【0241】 在整個治療過程中，投與可呈一個劑量形式連續地或間歇性地（例如，以適當間隔之分次劑量）實現。確定最有效之投與手段及劑量的方法為熟習此項技術者所熟知且將隨用於療法之調配物、療法之目的、所治療之靶細胞及所治療之個體而變化。可在由治療醫師、獸醫或臨床醫生選擇之劑量水準及模式下進行單次或多次投與。

【0242】 一般而言，式(I)、式(II)或式(III)化合物或活性劑之適合劑量在每公斤個體體重每天約10 μg 至約250 mg（更典型地約100 μg 至約25 mg）之範圍內。在式(I)、式(II)或式(III)化合物或活性劑為鹽、酯、醯胺、前藥或其類似物時，投與量以母體化合物計且實際使用重量按比例增加。

套組

【0243】 本發明之一個態樣係關於一種套組，其包含(a)式(I)、式(II)或式(III)化合物或包含如式(I)、式(II)或式(III)中任一個所定義之化合物的組合物，例如典型地提供於適合之容器中及/或具有適合之包裝；及(b)使用說明，例如關於如何投與化合物或組合物之書面說明。

【0244】 書面說明亦可包括式(I)、式(II)或式(III)化合物適合治療之適應症的清單。

【0245】 在一個實施例中，該套組進一步包含(c)第二活性劑或包含第二活性劑之組合物。此處，書面說明亦可包括第二活性劑與式(I)、式(II)或式(III)化合物共同適合治療之適應症的清單。

投與途徑

【0246】 式(I)、式(II)或式(III)化合物、第二活性劑或者包含式(I)、式(II)或式(III)化合物或第二活性劑之醫藥組合物可藉由任何便利投與途徑，無論是全身/外周或是局部(亦即，在所要作用部位)投與個體。

【0247】 投與途徑包括但不限於經口(例如藉由攝入)；經口腔；經舌下；經皮(包括例如貼片、石膏等)；經黏膜(包括例如貼片、石膏等)；經鼻內(例如藉由鼻用噴霧)；經眼(例如滴眼劑)；經肺(例如藉由吸入或吹入療法，使用例如經由氣霧劑，例如經口或鼻)；經直腸(例如藉由栓劑或灌腸劑)；經陰道(例如藉由子宮托)；非經腸，例如藉由注射或輸注，包括皮下、皮內、肌肉內、靜脈內、動脈內、心內、鞘內、脊柱內、囊內、被膜下、眶內、腹膜內、氣管內、皮下、關節內、蛛網膜下及胸骨內；藉由植入貯庫或貯器，例如經皮下或肌肉內。

個體/患者

【0248】 個體/患者可為脊索動物、脊椎動物、哺乳動物、胎盤哺乳動物、有袋動物(例如，袋鼠、袋熊)、齧齒動物(例如，豚鼠、倉鼠、大鼠、小鼠)、鼠類(例如，小鼠)、兔類動物(例如，兔子)、禽類(例如，鳥)、犬類(例

如，狗)、貓類(例如，貓)、馬類(例如，馬)、豬類(例如，豬)、綿羊類(例如，綿羊)、牛類(例如，奶牛)、靈長類動物、猿類(例如，猴或猿)、猴(例如，狨、狒狒)、猿(例如，大猩猩、黑猩猩、猩猩、長臂猿)或人類。此外，個體/患者可為其任何發育形式，例如胎兒。

【0249】 在一個實施例中，個體/患者為人類。

【0250】 亦設想本發明可對患有微生物感染之非人類動物實踐。非人類哺乳動物可為齧齒動物。齧齒動物包括用於實驗室研究之大鼠、小鼠、豚鼠、栗鼠及其他類似大小之小型齧齒動物。

其他選項

【0251】 以上所描述之實施例之各個及每個相容組合均明確揭示於本文中，如同單獨地且明確地敘述各個及每個組合。

【0252】 鑑於本發明，本發明之各種其他態樣及實施例對熟習此項技術者將顯而易知。

【0253】 「及/或」在用於本文中時應被視為在有或無另一者之情況下特定揭示兩個規定特徵或組分中之每一者。舉例而言，「A及/或B」應被視為特定揭示(i) A，(ii) B及(iii) A及B中之每一種情況，如同在本文中逐一示出每一種情況。

【0254】 除非上下文另外指定，否則以上所示之特徵之描述及定義不限於本發明之任何特定態樣或實施例，且同樣適用於所描述之所有態樣及實施例。在技術上適當時可

將實施例組合，因而本發明擴展至本文中所提供之實施例的所有排列及組合。

【0255】 現將藉由實例且參考以上所描述之特徵來說明本發明之某些態樣及實施例。

實例

【0256】 提供以下實例僅用於說明本發明，而不意欲限制如本文中所描述之本發明之範疇。

縮寫

縮寫	含義
PMBN	多黏菌素B九肽
PMB	多黏菌素B
Thr	酰胺酸
Ser	絲胺酸
DSer	D-絲胺酸
Leu	白胺酸
Ile	異白胺酸
Phe	苯丙胺酸
DPhe	D-苯丙胺酸
Val	纈胺酸
Dab	α,γ -二胺基丁酸
DIPEA	<i>N,N</i> -二異丙基乙胺
HATU	六氟磷酸2-(7-氮雜-1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四 甲基脲
DCM	二氯甲烷
TFA	三氟乙酸
ND	未測定
N/A	不適用
DMF	<i>N,N</i> -二甲基甲醯胺
PMBH	多黏菌素B七肽(3-10)
PMBD	多黏菌素B十肽
Pro	脯胺酸
Dap	α,β -二胺基丙酸
Gly	甘胺酸
NorLeu	正白胺酸
Ruphos	2-二環己基膦基-2',6'-二異丙基聯苯
Xphos	2-二環己基膦基-2',4',6'-三異丙基聯苯
SFC	超臨界流體層析
Fmoc	苜基甲氧基羰基
Cbz	苯甲氧基羰基

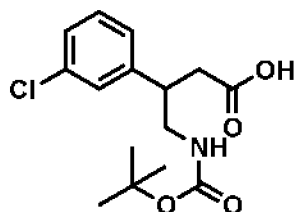
縮寫	含義
HCTU	六氟磷酸O-(1H-6-氯苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲
Boc	三級丁氧基羰基
PyBOP	六氟磷酸(苯并三唑-1-基氧基)三吡咯啉酮基鎂
NMM	N-甲基嗎啉
THF	四氫呋喃
ivDde	1-(4,4-二甲基-2,6-二側氧基環己-1-亞基)-3-甲基丁基
DPPA	疊氮磷酸二苯酯
TIS	三異丙基矽烷
HOBt	1-羥基苯并三唑
IPA	異丙醇

合成實例

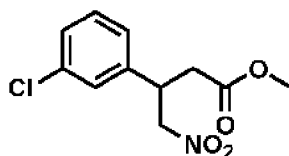
N 末端酸之合成

【0257】 在目前的工作中，使用呈適當經保護之形式的3-經取代之4-胺基丁酸。以下詳細描述非標準胺基酸之合成，以及對映異構體分離之方法

【0258】 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸——異構體1及異構體2



(i) 3-(3-氯苯基)-4-硝基丁酸甲酯

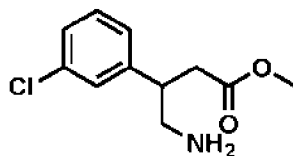


【0259】 在室溫下將3-氯肉桂酸(10 g)、甲醇(100 mL)及濃硫酸(4 mL)之混合物攪拌20小時。將混合物蒸乾，並且使殘餘物分配在二氯甲烷(DCM)與水之間。分

離水相且用額外的 D C M 萃取。合併有機萃取物，用硫酸鎂乾燥，過濾並蒸乾，產生呈白色固體狀之甲酯 (10.19 g)。將此固體溶解於硝基甲烷 (32 mL) 中且用 1,8-二氮雜雙環 [5.4.0] 十一碳-7-烯 (DBU) (8.5 mL) 處理。在室溫下將混合物攪拌 20 小時，隨後蒸乾且使殘餘物分配在 0.5 M HCl 水溶液與乙醚之間。分離水相且用額外的乙醚萃取。合併有機萃取物，用鹽水洗滌，用硫酸鎂乾燥，過濾並蒸乾。在矽膠上純化殘餘物，用己烷及乙酸乙酯 (0-100%) 溶析。合併適當溶析份並蒸乾，產生呈黃色油狀之所要產物 (9.93 g, 70% 產率)。

【0260】 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2.71-2.79 (2H, m), 3.66 (3H, s), 3.93-4.01 (1H, m), 4.62 及 4.73 (2H, ABq, 呈現為 2 x dd, J 12.8, 8.0 Hz), 7.11-7.28 (4H, m)。

(ii) 4-胺基-3-(3-氯苯基)丁酸甲酯



【0261】 向在約 0°C 下攪拌之 3-(3-氯苯基)-4-硝基丁酸甲酯 (9.93 g) 於乙酸 (90 mL) 中之溶液中逐份添加鋅粉 (20.1 g) (注意：延遲放熱)。使混合物升溫至室溫，攪拌 19 小時。將混合物蒸乾並且使殘餘物分配在 NaHCO_3 水溶液與乙酸乙酯之間。隨後將混合物濾過矽藻土並且分離水相與有機相。用額外的乙酸乙酯再萃取水

相。合併有機萃取物，用鹽水洗滌，用硫酸鎂乾燥，過濾並蒸乾，產生呈橙色油狀之所要產物(4.80 g)。

(iii) 標題化合物——外消旋

【0262】 在室溫下將4-胺基-3-(3-氯苯基)丁酸甲酯(4.80 g)、二碳酸二(三級丁)酯(5.28 g)及二氯甲烷(100 mL)之混合物攪拌18小時。將混合物蒸乾並且在矽膠上純化殘餘物，用石油醚40-60及乙酸乙酯(0-100%)溶析。合併適當溶析份並蒸乾，產生呈乳油色固體狀經Boc保護之酯4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸甲酯(2.59 g)。

【0263】 在室溫下將4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸甲酯(2.49 g)、氫氧化鋰(546 mg)、1,4-二噁烷(40 mL)及水(40 mL)之混合物攪拌64小時。隨後將混合物蒸乾。將殘餘物溶解於水中，用1 M HCl水溶液中中和並且用乙酸乙酯($\times 2$)萃取。合併有機萃取物，用鹽水洗滌，用硫酸鎂乾燥，過濾並蒸乾，產生呈黃色油狀之所要產物(2.51 g)。

【0264】 m/z 314 (MH^+) $C_{15}H_{20}ClNO_4$ 需要313.11。 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 1.40 (9H, s), 2.42-2.73 (2H, m), 3.24-4.49 (4.4 H, m, 包括 CH_3OD , CH_2 , 及 CH), 7.17-7.38 (4H, m)。

(iv) 標題化合物——異構體分離——方法1

【0265】 將 4 - ((三級丁氧基羰基)胺基) - 3 - (3 - 氯苯基) 丁酸 (2.09 g) 溶解於甲醇中達至 60 mg/mL，隨後使用以下所描述之條件 (製備分離條件 1) 藉由 SFC 加以純化。將含有增濃異構體 1 (較快跑出) 及異構體 2 (較慢跑出) 之合併溶析份合併，濃縮並且在相同的層析條件下單獨對每一者進行再純化。

【0266】 隨後使用旋轉蒸發器將異構體 1 及異構體 2 各自之合併溶析份蒸發至接近乾燥，轉移至含 DCM 之最終容器中，在 40 °C 下在氮氣流下將 DCM 移除，隨後在真空烘箱中在 40 °C 及 5 mbar 下儲存 16 小時。

【0267】 4 - ((三級丁氧基羰基)胺基) - 3 - (3 - 氯苯基) 丁酸 (異構體 1)

【0268】 白色固體，883 mg，95.6% ee。在分析系統 1 上之滯留時間 2.89 min。

【0269】 4 - ((三級丁氧基羰基)胺基) - 3 - (3 - 氯苯基) 丁酸 (異構體 2)

【0270】 白色固體，876 mg，98.6% ee。在分析系統 1 上之滯留時間 3.29 min。

【0271】 製備分離條件 1：

Berger Multigram II SFC

管柱詳情：Lux A1 (Phenomenex，21.2 mm × 250 mm，5 μm)

管柱溫度：40 °C

流速：50 mL/min

B P R : 1 2 5 B a r G

偵測器波長 : 2 1 0 n m

注入體積 : 3 0 0 μ L (1 8 m g)

等度條件 : 1 2 : 8 8 E t O H : C O ₂ (0 . 1 % v / v N H ₃)

【 0 2 7 2 】 分析條件 1 :

W a t e r s U P C 2

管柱詳情 : L u x C 4 (P h e n o m e n e x , 4 . 6 m m \times 2 5 0 m m , 5 μ m)

管柱溫度 : 4 0 $^{\circ}$ C

流速 : 4 m L / m i n

偵測器波長 : 2 1 0 - 4 0 0 n m

注入體積 : 1 . 0 μ L

B P R : 1 2 5 B a r G

等度條件 : 1 0 : 9 0 E t O H : C O ₂ (0 . 1 % v / v N H ₃)

(v) 標題化合物——異構體分離——方法 2

【 0 2 7 3 】 使用以下所描述之條件(製備分離條件 2)藉由 S F C 來純化 4 - ((三級丁氧基羰基) 胺基) - 3 - (3 - 氯苯基) 丁酸。分離之後，經由旋轉蒸發器在浴液溫度 4 0 $^{\circ}$ C 下將溶析份乾燥，獲得所要分離對映異構體。在相同管柱上進一步純化較慢跑出之對映異構體，用 2 0 % B 溶析。

【 0 2 7 4 】 製備分離條件 2 :

儀器 : T h a r 2 0 0 製備型 S F C (S F C - 1 0)

管柱 : C h i r a l P a k A Y , 3 0 0 \times 5 0 m m 內徑 , 1 0 μ m

移動相 : A 用於 C O ₂ 且 B 用於 I P A

梯度：B 25 %

流速：200 mL / min

背壓：100 bar

管柱溫度：38 °C

波長：220 nm

循環時間：~4.5 min

【0275】 分析條件2：

儀器：Waters UPC2分析型SFC (SFC-H)

管柱：ChiralPak AY, 150×4.6 mm內徑, 3 μm

移動相：A用於CO₂且B用於IPA (0.05% DEA)

梯度：B 5-40 %

流速：2.5 mL/min

背壓：100 bar

管柱溫度：40 °C

波長：220 nm

【0276】 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸(異構體1)。滯留時間2.796 min。藉由與以下異構體(2)相比較來指定(R)立體化學

【0277】 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸(異構體2)。滯留時間3.264 min。藉由如以下所描述對脫去BOC保護之物質進行小分子結晶來指定(S)立體化學。

(vi) 立體化學之證實

【0278】 (S)-4-胺基-3-(3-氯苯基)丁酸之三氟乙酸鹽

【0279】 向4-(三級丁氧基羰基胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸異構體2 (基於分析方法2之滯留時間3.264 min) (1.5 g, 4.78 mmol)於二氯甲烷(20 mL)中之冰水冷卻溶液中添加三氟乙酸(5 mL)。添加之後，在此溫度下將混合物攪拌4小時。隨後濃縮反應混合物。將粗混合物溶解於水(10 mL)中並凍乾，得到產物；(S)-4-胺基-3-(3-氯苯基)丁酸之TFA鹽(1.5 g, 95%產率)。LC-MS: m/z 214 (M+H)⁺

【0280】 (S)-4-胺基-3-(3-氯苯基)丁酸

【0281】 向(S)-4-胺基-3-(3-氯苯基)丁酸之三氟乙酸鹽(0.5 g, 1.53 mmol)於水(10 mL)中之溶液中添加稀氫氧化銨水溶液直至pH值達到7。將所得溶液儲存在開放25 mL燒瓶中並且在室溫下靜置1天。結晶後，傾析母液並且對固體晶體進行X射線繞射研究。

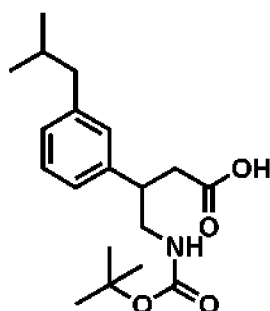
【0282】 X射線繞射研究顯示化合物具有(S)立體化學。

【0283】 X射線繞射條件：

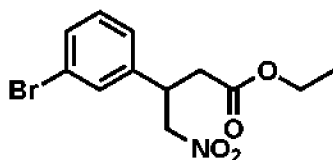
使用Bruker APEX-II CCD繞射儀。

【0284】 在資料收集期間將晶體保持在302.71 K下。使用Olex2 (Dolomanov等人)，利用ShelXT [2]結構解析程式 (Sheldrick A71) 使用Intrinsic Phasing來解析結構，並且利用ShelXL [3]精化套裝

【0291】 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-異丁基苯基)丁酸



(i) 3-(3-溴苯基)-4-硝基丁酸乙酯



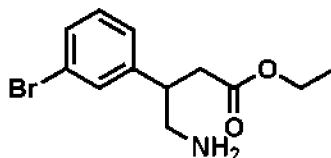
【0292】 將氫化鈉(60%)於礦物油(394.26 mg, 9.86 mmol)及2-二甲氧基乙烷(22.5 mL)(DME)中之混合物冷卻至0°C。逐滴添加三乙基膦醯基乙酸酯(10.2 mL, 51.43 mmol)並且將混合物攪拌10分鐘。逐滴添加3-溴苯甲醛(1.0 mL, 8.57 mmol)於DME(5 mL)中之溶液。使反應混合物升溫至室溫並回流3小時。

【0293】 將混合物蒸乾並且使殘餘物分配在己烷與水之間。分離水層且用額外的己烷萃取。合併有機萃取物，用水洗滌，用MgSO₄乾燥，過濾並蒸乾。在矽膠上純化殘餘物，用石油醚40-60及乙酸乙酯(0-100%)溶析。合併適當溶析份並蒸乾，產生呈白色固體狀之(*E*)-3-(3-溴苯基)丙-2-烯酸乙酯(1.44 g, 65%)。使用如以上所描述之步驟(i)中製備4-((三級丁氧基羰基)胺

基)-3-(3-氯苯基)丁酸時之硝化條件將此轉化為3-(3-溴苯基)-4-硝基丁酸乙酯，以60%產率得到產物。

【0294】 m/z 316, 318 (MH^+)。 $C_{12}H_{14}BrNO_4$ 需要315.01。

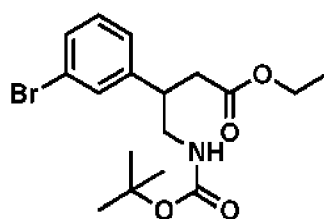
(ii) 4-胺基-3-(3-溴苯基)丁酸乙酯



【0295】 使用以上針對步驟(ii)中之4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸所描述之條件將3-(3-溴苯基)-4-硝基丁酸乙酯(1.08 g)轉化為4-胺基-3-(3-溴苯基)丁酸乙酯，以67%產率得到產物。

【0296】 m/z 286及288 (MH^+)， $C_{12}H_{16}BrNO_2$ 精確質量285.04。

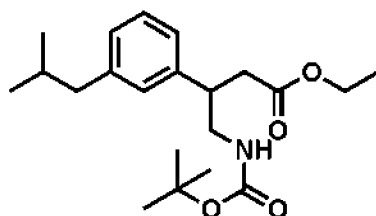
(iii) 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-溴苯基)丁酸乙酯



【0297】 在以上針對步驟(iii)中之4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸所描述之條件下將4-胺基-3-(3-溴苯基)丁酸乙酯(655 mg)轉化為4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-溴苯基)丁酸乙酯，以72%產率得到產物。

【0298】 m/z 386 及 388 (MH^+), $C_{17}H_{24}BrNO_4$ 精確質量 385.09。

(iv) 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-異丁基苯基)丁酸乙酯



【0299】 藉由排空/氬氣沖洗將 Ruphos (48.3 mg, 0.1 mmol)、磷酸三鉀 (330 mg, 1.55 mmol)、3-(3-溴苯基)-4-((三級丁氧基羰基)胺基)丁酸乙酯 (200 mg, 0.52 mmol) 及異丁基硼酸 (132 mg, 1.29 mmol) 於甲苯 (9 mL) 中之混合物脫氣四次，隨後添加乙酸鈣 (II) (5.8 mg, 0.03 mmol)。在 110 °C 下將混合物攪拌 100 分鐘。使反應混合物冷卻，隨後將其濾過矽藻土並且留在溶液中隔夜。將混合物蒸乾且在矽膠上純化，用石油醚 40-60 及乙酸乙酯 (0-100%) 溶析。合併適當溶析份並蒸乾，產生呈無色油狀之 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-異丁基苯基)丁酸乙酯 (74 mg, 39%)。

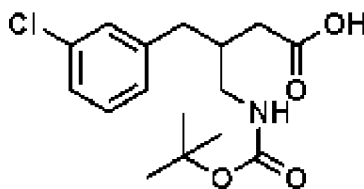
【0300】 m/z 364 (MH^+)。 $C_{21}H_{33}NO_4$ 精確質量 363.24。

(v) 標題化合物

【0301】 在室溫下將 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-異丁基苯基)丁酸乙酯 (74 mg, 0.2 mmol) 及氫氧化鋰 (15 mg, 0.6 mmol) 於 1,4-二噁烷 (3 mL) 及水 (3 mL)

中之混合物攪拌 16 小時。將混合物蒸乾並且使殘餘物分配在乙酸乙酯與水之間。分離有機相並丟棄。用 1 M HCl (水溶液) 酸化水相並且用乙酸乙酯 ($\times 2$) 萃取。合併有機萃取物，用 $MgSO_4$ 乾燥，過濾並蒸乾，產生呈無色油狀之 4 - ((三級丁氧基羰基) 胺基) - 3 - (3 - 異丁基苯基) 丁酸 (65 mg)。 m/z 336 (MH^+) $C_{19}H_{29}NO_4$ 精確質量 335.21。

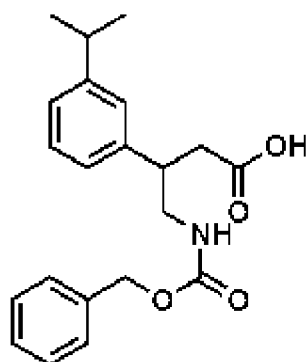
【0302】 4 - ((三級丁氧基羰基) 胺基) - 3 - (3 - 氯苯甲基) 丁酸



【0303】 如針對以上所描述之步驟 (i) 中之 4 - ((三級丁氧基羰基) 胺基) - 3 - (3 - 異丁基苯基) 丁酸所描述將 2 - (3 - 氯苯基) 乙醛轉化為 3 - (3 - 氯苯甲基) - 4 - 硝基丁酸乙酯。如步驟 (ii) 及 (iii) 中進行還原及保護，繼而如以上步驟 (v) 中進行水解，得到呈無色油狀之標題化合物。

【0304】 m/z 328 (MH^+)。 $C_{16}H_{22}ClNO_4$ 精確質量 327.12。

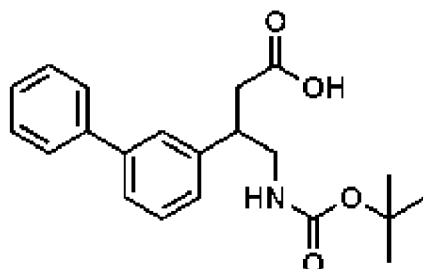
【0305】 4 - (((苯甲氧基) 羰基) 胺基) - 3 - (3 - 異丙基苯基) 丁酸



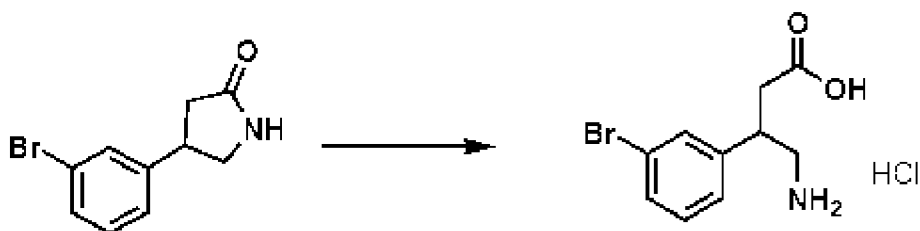
【0306】 將 4-胺基-3-(3-異丙基苯基)丁酸乙酯 (1.55 g, 6.21 mmol) (使用如以上所描述之 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-異丁基苯基)丁酸步驟 (i) 至 (ii) 中之方法製備) 及碳酸氫鈉 (0.783 g, 9.32 mmol) 之混合物溶解於水 (10 mL) 及 1,4-二噁烷 (5 mL) 中。在冰浴中冷卻混合物，並且用氯甲酸苯甲酯溶液 (0.98 mL, 6.84 mmol) 處理。在 10 °C 下將混合物攪拌 1 小時，隨後允許升溫至室溫。攪拌 20 小時之後，將混合物蒸乾，並且將殘餘物分配在乙醚與 0.5 M HCl HCl 水溶液之間。分離水層且用額外的乙醚萃取。合併有機萃取物，用鹽水洗滌，經無水 MgSO₄ 乾燥，並蒸發。在矽膠上純化粗產物，用石油醚 40-60 及乙酸乙酯 (0-100%) 溶析。合併含產物之溶析份並蒸發至淺黃色油 (1.74 g, 73%)。如先前於步驟 (iii) 中針對製備 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-異丁基苯基)丁酸所描述用氫氧化鋰使乙酯水解，繼而在矽膠上層析，用石油醚 40-60 及乙酸乙酯 (0-100%) 溶析，得到呈白色固體狀之標題化合物 (60%)。

【0307】 m/z 356 (MH^+)。 $C_{21}H_{25}NO_4$ 精確質量：
355.18。

【0308】 4-([1,1'-聯苯]-3-基)-3-(((三級丁氧基羰基)胺基)甲基)丁酸



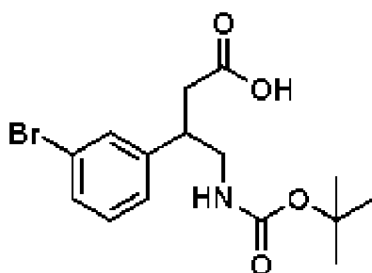
(i) 4-胺基-3-(3-溴苯基)丁酸鹽酸鹽



【0309】 在 $100^\circ C$ 下將 4-(3-溴苯基)吡咯啉-2-酮 (1.0 g, 4.16 mmol) 及 6 M HCl 水溶液 (15.0 mL, 90 mmol) 之混合物加熱 16 小時。將混合物蒸乾，與水、繼而依序與乙酸乙酯及二氯甲烷 (DCM) 一起共蒸發，以假定定量產率得到呈白色固體狀之所要產物。

【0310】 m/z 258 及 260 (MH^+) $C_{10}H_{12}BrNO_2$ 精確質量：257.01。

(ii) 3-(3-溴苯基)-4-((三級丁氧基羰基)胺基)丁酸



【0311】 在室溫下將4-胺基-3-(3-溴苯基)丁酸鹽酸鹽(1.31 g, 4.45 mmol)、碳酸三級丁氧基羰基三級丁酯(Boc-O-Boc, 1.41 g, 6.45 mmol)、1,4-二噁烷(8 mL)及1 M NaOH水溶液(8.0 mL, 8 mmol)之混合物攪拌64小時。將混合物蒸乾。將殘餘物溶解於水中,用1 M HCl水溶液中中和並且用乙酸乙酯($\times 2$)萃取。合併有機萃取物,用MgSO₄乾燥,過濾並蒸乾,產生呈無色油狀之所要產物(1.60 g, 86%)。

【0312】 m/z 357.5 及 359.4 (MH⁺)。
C₁₅H₂₀BrNO₄精確質量: 357.06。

(iii) 標題化合物

【0313】 在100°C下在氮氣氛圍下將3-(3-溴苯基)-4-(三級丁氧基羰基胺基)丁酸(2.69 g, 7.51 mmol)、苯基硼酸(2.3 g, 18.8 mmol)、乙酸鈣(II)(84 mg, 0.38 mmol)、Xphos(716 mg, 1.5 mmol)及磷酸三鉀(4781.9 mg, 22.53 mmol)於1,4-二噁烷(130 mL)中之混合物攪拌2小時。隨後使混合物冷卻至室溫,濾過矽藻土,用乙酸乙酯洗滌並蒸乾。在矽膠上純化殘餘物,用石油醚及乙酸乙酯(0-100%)溶析。合併適當溶析份並蒸乾,產生呈灰色固體狀之所要產物(1.44 g, 42%產率)。

【0314】 m/z 355 (M⁺), 可見。C₂₁H₂₅NO₄精確質量: 355.18。

(iv) 對掌性分離

【0315】 將 4 - ([1,1' - 聯 苯] - 3 - 基) - 3 - (((三 級 丁 氧 基 羰 基) 胺 基) 甲 基) 丁 酸 (1 . 4 4 g) 溶 解 於 MeOH 中 達 至 3 0 m g / m L ， 隨 後 使 用 以 下 方 法 藉 由 SFC 進 行 純 化 。 隨 後 使 用 旋 轉 蒸 發 器 將 異 構 體 1 (較 快 跑 出) 及 異 構 體 2 (較 慢 跑 出) 各 自 之 合 併 溶 析 份 蒸 發 至 接 近 乾 燥 ， 轉 移 至 含 DCM 之 最 終 容 器 中 ， 在 4 0 ° C 下 在 壓 縮 空 氣 流 下 將 DCM 移 除 ， 隨 後 儲 存 在 真 空 烘 箱 中 在 4 0 ° C 及 5 m b a r 下 直 至 恆 重 。

【0316】 4 - ([1,1' - 聯 苯] - 3 - 基) - 3 - (((三 級 丁 氧 基 羰 基) 胺 基) 甲 基) 丁 酸 異 構 體 1 。 白 色 固 體 5 2 3 m g 。 滯 留 時 間 : (分 析 條 件 3) 2 . 7 0 m i n 。 e e 9 9 . 8 % 。

【0317】 4 - ([1,1' - 聯 苯] - 3 - 基) - 3 - (((三 級 丁 氧 基 羰 基) 胺 基) 甲 基) 丁 酸 異 構 體 2 。 白 色 固 體 5 3 7 m g 。 滯 留 時 間 : (分 析 條 件 3) 3 . 4 6 m i n 。 e e 9 9 . 8 % 。

【0318】 純 化 條 件 3 :

Berger Multigram II SFC

管 柱 詳 情 : Lux A1 (Phenomenex , 21.2 mm × 250 mm , 5 μ m)

管 柱 溫 度 : 4 0 ° C

流 速 : 5 0 m L / m i n

BPR : 1 0 0 B a r G

偵 測 器 波 長 : 2 1 5 n m

注 入 體 積 : 1 , 0 0 0 μ L (3 0 m g)

等 度 條 件 : 1 5 : 8 5 E t O H : C O ₂ (0 . 2 % v / v N H ₃)

【0319】 分析條件3：

Waters UPC2

管柱詳情：Amy-C (YMC GmbH, 4.6 mm × 250 mm, 5 μm)

管柱溫度：40 °C

流速：4 mL/min

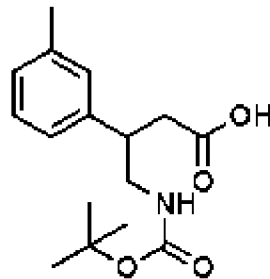
偵測器波長：210-400 nm

注入體積：1.0 μL

BPR：125 Bar G

等度條件：15:85 EtOH:CO₂ (0.2% v/v NH₃)

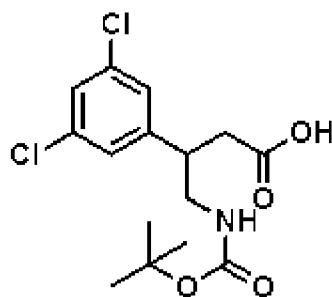
【0320】 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-甲基苯基)丁酸。



【0321】 使用以上針對步驟(i)至(ii)中製備4-([1,1'-聯苯]-3-基)-3-(((三級丁氧基羰基)胺基)甲基)丁酸所描述的方法將4-(3-甲基苯基)吡咯啉-2-酮轉化為標題化合物。獲得呈無色油狀之標題化合物。

【0322】 m/z 294 (MH⁺)。C₁₆H₂₃NO₄ 精確質量 293.16。

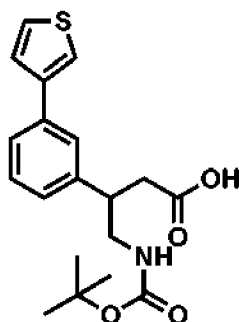
【0323】 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3,5-二氯苯基)丁酸



【0324】 使用以上針對步驟(i)至(iii)中製備4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-異丁基苯基)丁酸所描述的方法將3,5-二氯苯甲醛轉化為標題化合物。如針對步驟(v)中製備(3-異丁基苯基)丁酸所描述使乙酯水解，得到呈無色油狀之標題化合物。

【0325】 m/z 348. (MH^+)。 $C_{15}H_{19}Cl_2NO_4$ 精確質量 347.07。

【0326】 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-(噻吩-3-基)苯基)丁酸



【0327】 使用以上針對步驟(iv)中製備(3-異丁基苯基)丁酸所描述之方法使4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-溴苯基)丁酸乙酯(207 mg, 0.54 mmol)與3-噻吩基硼酸反應。如步驟(v)中所描述使產物水解，得到呈無色油狀之標題化合物。

【0328】 m/z 362 (MH^+)。 $C_{19}H_{23}NO_4S$ 精確質量 361.13。

中間物多黏菌素九肽及產物化合物

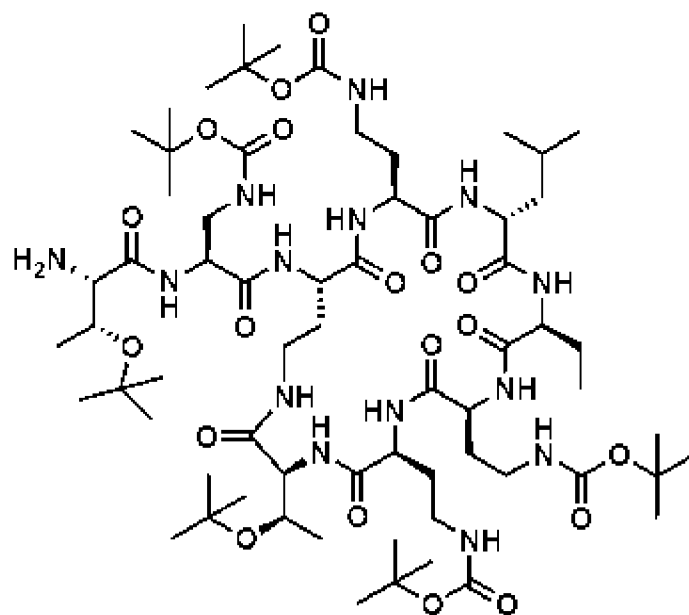
【0329】 中間物1：H-Thr(O-tBu)-Dap(BOC)-環 [Dab-Dab(BOC)-DPhe-Leu-Dab(BOC)-Dab(BOC)-Thr]

【0330】 先前在 WO 2015/135976 中描述為中間物 11-肆-(N-Boc)-L-Thr(O-tBu)-L-Dap-多黏菌素 B 七肽。

【0331】 中間物2：H-Thr(O-tBu)-Dap(BOC)-環 [Dab-Dab(BOC)-Leu-Leu-Dab(BOC)-Dab(BOC)-Thr]

【0332】 先前在 WO 2015/135976 中描述為中間物 14-肆-(N-Boc)-L-Thr(O-tBu)-L-Dap-多黏菌素 E 七肽。

【0333】 中間物3：H-Thr(O-tBu)-Dap(BOC)-環 [Dab-Dab(BOC)-Dleu-L-Abu-Dab(BOC)-Dab(BOC)-Thr(O-tBu)]



(i) CBZ-Thr(O-tBu)-Dap(Boc)-Dab-Dab(Boc)-Dleu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-tBu)-OH

【0334】 使用以上所描述之一般方法3之方法，在樹脂上藉由固相肽合成使用Fmoc化學反應來製備線性肽CBZ-Thr(O-tBu)-Dap(Boc)-Dab(ivDde)-Dab(Boc)-Dleu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-tBu)。該序列以氯三苯甲氧基(CTC)-樹脂(2.0 g)開始，該樹脂預先負載有Fmoc-Thr(tBu)-OH，負載量為0.75 mmol/g。將樹脂結合之肽(3.93 g，對應於1.5 mmol)置於500 mL錐形燒瓶中且用含4%脛之DMF(100 mL)處理。將混合物置於振盪器上並輕緩振盪30分鐘。將混合物傾入燒結管柱中，隨後用DMF(3×100 mL)洗滌。施加壓縮空氣以移除最後之痕量DMF。隨後用THF及用DCM重複該程序。

【0335】 隨後用4:1 DCM:六氟異丙醇(100 mL)處理樹脂以使肽自樹脂裂解。30分鐘之後將管柱排空且重複該程序。隨後用DCM(100 mL)將樹脂洗滌三次。在減壓下蒸發所合併之溶析液及洗滌液並且在真空中乾燥隔夜。獲得724 mg白色固體(2.35 g, 定量)。

【0336】 m/z 1552, $C_{73}H_{126}N_{14}O_{22}$ 需要1550.92。

(ii) CBZ-Thr(O-tBu)-Dap(Boc)-環[Dab-Dab(Boc)-DLeu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-tBu)]

【0337】 將粗CBZ-Thr(O-tBu)-Dap(Boc)-Dab-Dab(Boc)-DLeu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-tBu)-OH(724 mg, 0.466 mmol)溶解於DMF(75 mL)中, 用二異丙基乙胺(DIPEA)(361 mg, 0.49 mL, 2.8 mmol)處理, 隨後在冰浴中冷卻。逐滴添加疊氮磷酸二苯酯(256 mg, 0.2 mL, 0.93 mmol), 隨後在冰浴冷卻下將混合物攪拌2小時。移除冰浴且在室溫下將溶液再攪拌2小時。蒸發溶劑並且將殘餘物施加至SiO₂ ISCO管柱(40 g), 且用0-10% MeOH/DCM進行層析。合併含產物之溶析份並蒸發至白色泡沫體。獲得418 mg(58%)。

【0338】 m/z 1534, $C_{73}H_{124}N_{14}O_{21}$ 需要1532.91。

(iii) 標題化合物

【0339】 將 $\text{CBZ-Thr(O-tBu)-Dap(Boc)-環[Dab-Dab(Boc)-DLeu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-tBu)]}$ (531 mg, 0.346 mmol) 溶解於甲醇 (50 mL) 中，且用甲酸銨 (545 mg, 8.6 mmol) 及 10% Pd/C (173 mg) 處理。在室溫下攪拌隔夜之後，將反應混合物濾過矽藻土，且用 MeOH 洗滌殘餘物。蒸發溶劑並且將殘餘物溶解於含 10% MeOH 之 EtOAc 中，用水洗滌 3 次並且用硫酸鎂乾燥。蒸發溶劑，留下白色固體。為了移除任何痕量甲酸鹽，將固體溶解於甲醇 (160 mL) 中並且與 Ambersep 900 樹脂 (12 mL) 一起振盪 30 分鐘。過濾混合物並蒸乾，獲得 464 mg 白色固體 (96%)。

【0340】 m/z 1400, $\text{C}_{65}\text{H}_{118}\text{N}_{14}\text{O}_{19}$ 需要 1398.87。

一般方法

【0341】 如下進行多黏菌素九肽衍生物之全合成。

【0342】 在樹脂上構築參與環化之 Dab 殘基之 γ -胺基受正交保護之線性肽，其中 C 末端胺基酸 (典型地為 Thr) 連接至固相。在將參與環化之 Dab (多黏菌素編號系統中之殘基 4) 部分脫去保護繼而自樹脂移出後，在樹脂外將所得線性肽環化。使用兩種一般方法，如以下所描述。

一般方法 1：使用 CBZ 保護胺基之全合成

【0343】 在自動化肽合成儀上使用標準 Fmoc 固相肽化學反應進行受保護之線性肽 (殘基 2-10 及 N 末端基團) 之合成。特定言之，使用 Fmoc-Thr(tBu)-PEG-PS 樹

脂作為起始物質來進行合成。使用5莫耳當量(相對於樹脂負載)之Fmoc胺基酸及HATU在DMF中利用原位活化,使用10莫耳當量DIPEA進行Fmoc-胺基酸與末端胺基上CBZ保護之偶合。使用20%吡啶/二甲基甲醯胺進行Fmoc去保護。使用BOC作為參與環化之Dab上之正交保護基。

【0344】將樹脂結合之線性肽用TFA/TIS/H₂O(96/2/2 v/v)處理2小時,以露出參與環化之Dab殘基,並且使肽自樹脂裂解。使用含PyBop/HOBt/NMM(4/4/8莫耳當量相對於初始負載)之DMF使此物質環化3小時。部分蒸發粗物質,溶解於乙腈/水中並且凍乾隔夜。隨後使用含10% Pd/C之乙酸/MeOH/水(5/4/1 v/v)移除CBZ基團。

【0345】藉由製備型HPLC純化粗產物且分離非對映異構體(表3)。注意針對每一對非對映異構體對特定條件進行最佳化。

一般方法2:使用Boc保護胺基之全合成

【0346】在自動化肽合成儀上使用標準Fmoc固相肽化學反應進行受保護之線性肽(殘基2-10及N末端基團)之合成。特定言之,使用預先負載Fmoc-Thr(tBu)-OH(負載約0.78 mmol/g)之氯三苯甲氯(CTC)-樹脂,以0.05至0.1 mmol規模進行合成。使用5莫耳當量(相對於樹脂負載)之Fmoc胺基酸及HATU在DMF中利用原位活化,使用10莫耳當量DIPEA進行Fmoc-胺基酸之偶

合。使用 20% 哌啶 / 二甲基甲醯胺進行 Fmoc 去保護。使用 ivDde 保護基作為參與環化之 Dab 殘基上之正交保護基。

【0347】 為了移除 ivDde 基團，用含 3% 胍之 DMF (100 mL / 100 μ mol，重複兩次)處理線性肽，繼而用 DMF \times 3、EtOH \times 3 及乙醚 \times 3 洗滌。隨後藉由用 20% HFIP / DCM 洗滌樹脂而使部分脫去保護之線性肽自樹脂裂解。將所得殘餘物溶解於 50% 乙腈 / 水中並且凍乾隔夜。將受保護之線性肽溶解於 DMF (20 mL / mmol 樹脂) 中，用 DPPA (3 莫耳當量，相對於樹脂負載) 及 DIPEA (6 莫耳當量，相對於樹脂負載) 環化。在室溫下將此溶液攪拌隔夜。用 TFA 移除 BOC 基團，並且將粗肽凍乾。

【0348】 藉由製備型 HPLC，使用以下所描述之製備型 HPLC 條件 4 來純化粗產物且分離非對映異構體。注意針對每一對非對映異構體對特定條件進行最佳化。

一般方法 3：酸與九肽偶合及分離

【0349】 以下關於實例化合物 5 及 6 來描述用於使九肽末端與胺基酸偶合之方法。所描述之條件可改適以用於其他九肽與胺基酸組合。

步驟 1

【0350】 將 H-Thr(O^tBu)-Dap(BOC)-環 [Dab-Dab(BOC)-DPhe-Leu-Dab(BOC)-Dab(BOC)-Thr] (中間物 1) (0.07 mmol) 溶解於二氯甲烷 (4 mL) 中，且用 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)

丁酸(1.5當量，相對於多黏菌素受質)、N,N-二異丙基乙胺(3.0當量)、繼之以HATU(2.0當量)進行處理。16小時之後，藉由LCMS證實反應完畢並且將反應混合物蒸乾。添加水(約10 mL)並且對混合物進行濕磨，隨後劇烈攪拌1小時。藉由過濾來收集所得沉澱物且在真空中乾燥隔夜。

步驟2

【0351】 將來自步驟1之經Boc保護之衍生物溶解於二氯甲烷(3 mL)中並且用TFA(1 mL)處理。在室溫下攪拌反應混合物直至LCMS證實完全脫去保護。蒸發溶劑並且藉由製備型HPLC使用製備型HPLC條件4所提供之條件對殘餘物進行層析，以分離非對映異構體。合併含早期跑出之非對映異構體之溶析份，蒸發至低體積並凍乾，得到呈TFA鹽形式之實例5。合併含稍後跑出之非對映異構體之溶析份，蒸發至低體積並凍乾，得到呈TFA鹽形式之實例6。

【0352】 注意針對每一對非對映異構體對特定條件進行最佳化。

【0353】 製備型HPLC條件4：

管柱：	Waters Sunfire C18 OBD 5 μ m \times 19 mm \times 150 mm	
移動相：	A：水/乙腈90/10，v/v，0.15% TFA. B：乙腈/水90/10，v/v，0.15% TFA	
流速：	10 mL/min	
梯度：	時間(min)	%移動相A
	0	100%
	3	100%
	8	85%
	13.5	85%
	15	75%

	18	0%
	23	100%
	25	100%
偵測：	210 nm	

【0354】 製備型 HPLC 條件 4：

管柱：	Phenomenex Hyperclone C18 BDS 5 μm \times 4.6 mm \times 150 mm	
移動相：	A：水/乙腈90/10，v/v，0.15% TFA. B：乙腈/水90/10，v/v，0.15% TFA	
流速：	1 mL/min	
梯度：	時間(min)	%移動相A
	0	100%
	20	40%
	21	0%
	23	0%
	23.5	100%
	25	100%
偵測：	210, 254 nm	
注入體積：	20 μL	

一般方法 3 b：使個別對映異構體與九肽偶合

【0355】 使用與以上一般方法 3 a 中針對對映異構混合胺基酸所描述相同的條件，使對映異構純胺基酸與九肽化合物 N 末端偶合。

化合物實例 5 及 6

【0356】 在一般方法 3 a 之條件下使 4 - ((三級丁氧基羰基)胺基) - 3 - (3 - 氯苯基)丁酸(異構體 2) (滯留時間 3.46 min 分析方法 1 或 3.264 min 分析方法 2) 偶合，繼而脫去保護，得到實例 5。在 X 射線測定由 4 - ((三級丁氧基羰基)胺基) - 3 - (3 - 氯苯基)丁酸(異構體 2) 衍生之 4 - 胺基 - 3 - (3 - 氯苯基)丁酸之絕對構形後，給實例(5)指定(S)立體化學。

【0357】 在一般方法 3 a 之條件下使 4 - ((三級丁氧基羰基)胺基) - 3 - (3 - 氯苯基)丁酸(異構體 1，滯留時間 2.89

min 分析方法 1 或 2.796 min 分析方法 2) 偶合，繼而脫去保護，得到實例 6。在 X 射線測定由 4-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-(3-氯苯基)丁酸(異構體 1) 衍生之 4-胺基-3-(3-氯苯基)丁酸之絕對構形後，給實例(6) 指定(R) 立體化學。

一般方法 4：轉化為乙酸鹽

【0358】 藉由用 10% 乙酸水溶液繼之以 1% 乙酸水溶液進行洗滌使 AG1-X2 樹脂(Bio-Rad Laboratories Ltd) 乙酸鹽形式 200-4-目再生，並置於燒結玻璃濾筒中。使用 30 g 樹脂:1 g TFA 鹽負載將呈 TFA 鹽形式之化合物於水中之溶液施加至管柱，並且允許管柱在重力下滴注，用水溶析。合併含產物之溶析份並且凍乾至白色固體。

【0359】 藉由 HPLC 使用以上所描述之條件(分析型 HPLC 條件)對最終化合物進行分析。

【0360】 以下提供呈乙酸鹽形式之實例 5 及實例 6 化合物之例示性分析資料。

【0361】 實例 5：(較快異構體) 乙酸鹽之 ^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ (ppm) 0.70 (3 H, d, J 6.1 Hz), 0.77 (3 H, d, J 6.3 Hz), 0.78-0.90 (1 H, m), 1.13 (3 H, d, J 6.3 Hz), 1.17 (3 H, d, J 6.4 Hz), 1.36-1.52 (2 H, m), 1.75-2.06 (17 H, m, 包括 1.91, s, OAc), 2.10-2.30 (4 H, m), 2.72-2.91 (4 H, m), 3.02-3.49 (14 H, m), 4.12-4.32 (8 H,

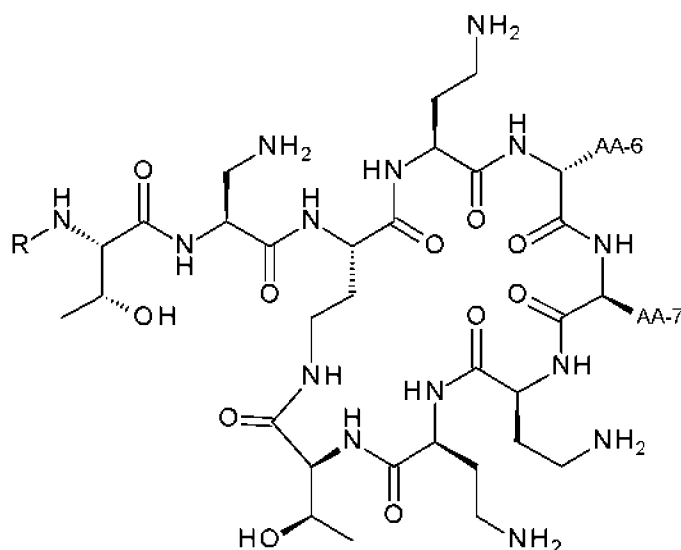
m), 4.48 (1 H, dd, J 5.6, 9.0 Hz), 4.54-4.60 (1 H, m), 4.63-4.68 (1 H, m), 7.25-7.41 (9 H, m)。m/z 1145 [MH⁺], 573 [M+2H]²⁺。

【0362】 實例6：(較慢異構體) 乙酸鹽之¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ (ppm) 0.60-0.67 (6 H, m), 0.69-0.84 (4 H, m), 1.16 (3 H, d, J 6.4 Hz), 1.33-1.50 (2 H, m), 1.76-2.04 (19 H, m, 包括 1.88, s, OAc), 2.06-2.26 (4 H, m), 2.67-2.86 (4 H, m), 3.00-3.46 (14 H, m), 3.98-4.04 (1 H, m), 4.14-4.30 (7 H, m), 4.45 (1 H, dd, J 5.6, 9.0 Hz), 4.54 (1 H, 呈現為 t, J 8.3 Hz), 4.72 (1 H, dd, J 5.0, 8.9 Hz), 7.20-7.40 (9 H, m)。m/z 1145 [MH⁺], 573 [M+2H]²⁺。

【0363】 在所有實例中，基於HPLC滯留時間(快溶析異構體及慢溶析異構體)以及Thr殘基(自快溶析異構體中之1.13 ppm移動至慢溶析異構體中之約0.65 ppm)之化學位移來指定非對映異構體。

實例化合物

【0364】 表1列出本發明之實例化合物。此等為具有以下所示之一般結構的化合物：



【0365】基團R對應於本發明化合物中之 $-X-R^{15}$ ，且此基團與當連同羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起時分別對應於基團 $-R^1$ 及 $-R^2$ 之第6位及第7位胺基酸殘基(分別為AA-6及AA-7，使用多黏菌素編號系統)一起示於表中。

【0366】在此等實例化合物中，基團 $-R^3$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為L-Thr，基團 $-R^4$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為L-Dap(因而 $-R^4$ 為 $-CH_2NH_2$)，且基團 $-R^8$ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為L-Thr(因而 $-R^8$ 為甲基)。

【0367】藉由已與具有已知絕對立體化學之材料相關聯之實例5及實例6相比較來指定側鏈-R中之絕對立體化學。

【0368】在實例1至實例6及實例15至實例33中，藉由比較非對映異構體之相對滯留時間及 1H NMR光譜(例如，考慮第2位處Thr殘基之化學位移)進行該確定。

【0369】 在實例7至實例14中，藉由比較非對映異構體之相對HPLC滯留時間來進行該確定。

【0370】 該表提供實例化合物之HPLC滯留時間。分析所使用之HPLC條件如以下所示。

【0371】 管柱：Phenomenex Hyperclone BDS C18，4.6 mm×150 mm，5 μm

流速：1 mL/min

溶析劑：

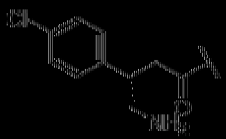
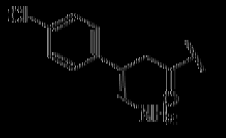
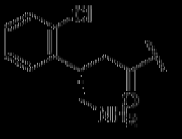
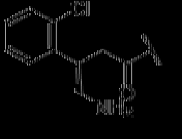
A = 10% AcN / 90% 水 / 0.15% TFA

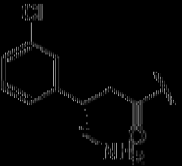
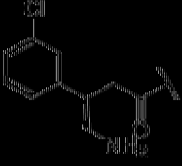
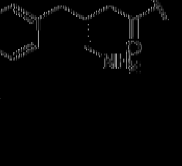
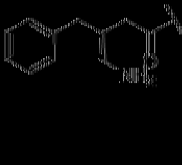
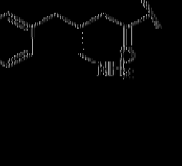
B = 90% AcN / 10% 水 / 0.15% TFA


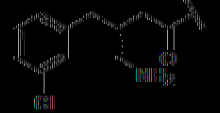
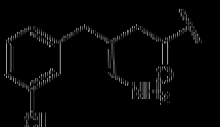
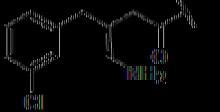
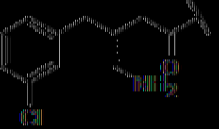
梯度：	Min	% A	% B
	0	100	0
	20	40	60
	21	0	100
	23	0	100
	23.5	100	0
	25	100	0

偵測：210，254 nm

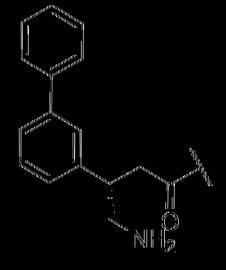
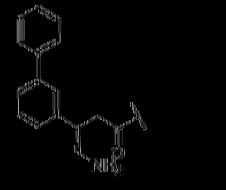
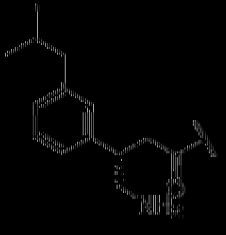
表 1 - 實例化合物

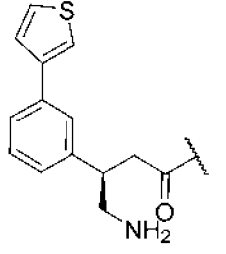
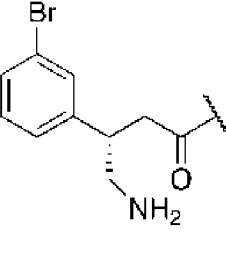
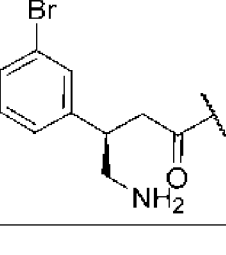
實例	名稱	IR	AA:G	AA:H	製法	式	質量	HPLC t_R (min)	ret/%
1	(S)-4-胺基-3-(4-氯苯基)- 噁基-(Thr-Dap)環 [[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab- Dab-(Thr)]		Phe	Leu	3a	C52J182.CIN1 5012	1143.6	9.6	1145 [M00+] 5/3 [M+200] ²⁺
2	(R)-4-胺基-3-(4-氯苯基)- 噁基-(Thr-Dap)環 [[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab- Dab-(Thr)]		Phe	Leu	3a	C52J182.CIN1 5012	1143.6	9.7	1145 [M00+] 5/3 [M+200] ²⁺
3	(S)-4-胺基-3-(2-氯苯基)- 噁基-(Thr-Dap)環 [[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab- Dab-(Thr)]		Phe	Leu	3a	C52J182.CIN1 5012	1143.6	9.1	1145 [M00+] 5/3 [M+200] ²⁺
4	(R)-4-胺基-3-(2-氯苯基)- 噁基-(Thr-Dap)環 [[Dab-Dab-DPhe- Leu-Dab-Dab-(Thr)]		Phe	Leu	3a	C52J182.CIN1 5012	1143.6	9.4	1145 [M00+] 5/3 [M+200] ²⁺

實例	名稱	IR	AA:G	AA:H	製法	式	質量	DOCPLC _{GR} (μm)	mol%
5	(S)-4-胺基-3-(3-氯苯基)- 噁基-[Thr-Dap-環[Dab- Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-(T- hr)]		Phe	Leu	3a, 3b	C52H82CN1 5O12	1143.6	9.6	1145 [M00+] 573 [M+200] ²⁺
6	(R)-4-胺基-3-(3-氯苯基)- 噁基-[Thr-Dap-環[Dab- Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-(T- hr)]		Phe	Leu	3a, 3b	C52H82CN1 5O12	1143.6	9.8	1145 [M00+] 573 [M+200] ²⁺
7	(R)-4-胺基-3-苯甲基-噁基- [Thr-Dap-環[Dab-Dab- DLeu-Leu-Dab-Dab- (Thr)]. 異精氨酸		Leu	Leu	3a	C50H87N15 O12	1089.7	8.8	1091 [M00+] 546 [M+200] ²⁺
8	(S)-4-胺基-3-苯甲基-噁基- [Thr-Dap-環[Dab-Dab- DLeu-Leu-Dab-Dab- (Thr)]. 異精氨酸		Leu	Leu	3a	C50H87N15 O12	1089.7	9.1	1091 [M00+] 546 [M+200] ²⁺
9	(R)-4-胺基-3-苯甲基-噁基- [Thr-Dap-環[Dab-Dab- DPhe-Leu-Dab-Dab- (Thr)]. 異精氨酸		Phe	Leu	3a	C53H85N15 O12	1123.7	10.7	1125 [M00+] 563 [M+200] ²⁺

實例	名稱	IR	AA-C	AA-1	製法	式	質量	HPLC t_R (min)	收率/%
10	(S)-4-胺基-3-苯甲酰基-吡啶-2-羧酸 [Thr-Dap-環[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]]. 異精氨酸		Phe	Leu	3a	C ₅₃ H ₈₅ N ₁₅ O ₁₂	1123.7	11.0	1125 [M+H] ⁺ 563 [M+2H] ²⁺
11	(R)-4-胺基-3-(3-氯苯甲酰基)-吡啶-2-羧酸 [Thr-Dap-環[Dab-Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]]. 異精氨酸		Phe	Leu	3a	C ₅₃ H ₈₄ ClN ₁₅ O ₁₂	1157.6	11.0	1159 [M+H] ⁺ 580 [M+2H] ²⁺
12	(S)-4-胺基-3-(3-氯苯甲酰基)-吡啶-2-羧酸 [Thr-Dap-環[Dab-Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]]. 異精氨酸		Phe	Leu	3a	C ₅₃ H ₈₄ ClN ₁₅ O ₁₂	1157.6	11.4	1159 [M+H] ⁺ 580 [M+2H] ²⁺
13	(S)-4-胺基-3-(3-氯苯甲酰基)-吡啶-2-羧酸 [Thr-Dap-環[Dab-Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr]]. 異精氨酸		Leu	Leu	3a	C ₅₀ H ₈₆ ClN ₁₅ O ₁₂	1123.6	10.4	1125 [M+H] ⁺ 563 [M+2H] ²⁺
14	(R)-4-胺基-3-(3-氯苯甲酰基)-吡啶-2-羧酸 [Thr-Dap-環[Dab-Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr]]. 異精氨酸		Leu	Leu	3a	C ₅₀ H ₈₆ ClN ₁₅ O ₁₂	1123.6	9.9	1125 [M+H] ⁺ 563 [M+2H] ²⁺

實例	名稱	IR	AA:G	AA:H	製法	式	質量	DOCPLC _{GR} (μm)	mol%
15	(S)-4-胺基-3-(3-異丙基苯基)-噻嗪基-1-噻吩-Dap 環 [[Dab-Dab-D-Leu-Leu-Dab-Dab-1-Thr]]		Leu	Leu	3a	C521191N15 O12	1117.7	10.7	1119 [M00+] 560 [M+200] ²⁺
16	(R)-4-胺基-3-(3-異丙基苯基)-噻嗪基-1-噻吩-Dap 環 [[Dab-Dab-D-Leu-Leu-Dab-Dab-1-Thr]]		Leu	Leu	3a	C521191N15 O12	1117.7	10.9	1119 [M00+] 560 [M+200] ²⁺
17	(S)-4-胺基-3-(3-異丙基苯基)-噻嗪基-1-噻吩-Dap 環 [[Dab-Dab-D-Phe-Leu-Dab-Dab-1-Thr]]		Phe	Abu	1	C531185N 15O12	1123.7	9.2	1125 [M00+] 563 [M+200] ²⁺
18	(R)-4-胺基-3-(3-異丙基苯基)-噻嗪基-1-噻吩-Dap 環 [[Dab-Dab-D-Phe-Leu-Dab-Dab-1-Thr]]		Phe	Abu	1	C531185N 15O12	1123.7	9.4	1125 [M00+] 563 [M+200] ²⁺

實例	名稱	IR	AA-C	AA-1	製法	式	質量	DOCPLC _{CR} (min)	mol%
24	(S)-3-((1,1'-聯苯)-3-基)-4-胺基丁醯基 [Thr-Dap-環][Dab-Dab- DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3b	C ₅₃ H ₈₅ N 15012	1123.7	8.5	1125 [M+H] ⁺ 563 [M+2H] ²⁺
25	(R)-3-((1,1'-聯苯)-3-基)-4-胺基丁醯基 [Thr-Dap-環][Dab-Dab- DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3b	C ₅₃ H ₈₅ N 15012	1123.7	8.7	1125 [M+H] ⁺ 563 [M+2H] ²⁺
26	(S)-4-胺基-3-(3-異丁基苯基)-丁醯基 [Thr-Dap-環][Dab-Dab-DLeu- Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3a	C ₅₁ H ₈₉ N 15012	1103.7	8.9	1105 [M+H] ⁺ 553 [M+2H] ²⁺

實例	名稱	-R	AA-6	AA-7	一般方法	式	質量	HPLC t_R (min)	m/z
31	(R)-4-胺基-3-(3-(噻吩-3-基)苯基)丁醯基-Thr-Dap-環[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3a	C ₅₁ H ₈₃ N 15O ₁₂ S	1129.6	8.5	566 [M+2H] ²⁺
32	(S)-4-胺基-3-(3-溴苯基)丁醯基-Thr-Dap-環[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3a	C ₄₇ H ₈₀ B rN15O ₁₂	1125.5	7.1	1128 [MH+] 564 [M+2H] ²⁺
33	(R)-4-胺基-3-(3-溴苯基)丁醯基-Thr-Dap-環[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr].		Leu	Abu	3a	C ₄₇ H ₈₀ B rN15O ₁₂	1125.5	7.5	1128 [MH+] 564 [M+2H] ²⁺

生物學結果

【0372】 測試本發明化合物，並且將結果與比較實例，包括此項技術中先前報導之化合物相比較。

MIC 測定

【0373】 藉由使分離之菌落（選自 18 至 24 小時 Mueller-Hinton 瓊脂平板）直接懸浮來製備接種物，調節至 0.5 麥克法蘭標準。藉由兩倍連續抗生素稀釋於無菌 96 孔微量滴定板中經陽離子調節之 Mueller-Hinton 肉湯中來進行 MIC 測試，總體積為 170 μL （150 μL 含抗微生物劑之肉湯、20 μL 接種物）。以一式兩份進行分析。在 35 °C 下在無振盪之情況下將平板有氧培育 18 至 20 小時，其中 MIC 定義為防止可見生長之最低藥物濃度。對若干化合物進行多次測試，且在此情況下，所提供之 MIC 為所獲得之中值。MIC 值以 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 列出。

活體外腎細胞毒性分析

【0374】 根據以下方案進行活體外腎細胞毒性分析。

【0375】 在補充有 5 ng/mL 表皮生長因子 (EGF) 及 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 牛垂體提取物 (BPE) 之角質細胞-SFM 培養基中維持並分析 HK-2 細胞。將細胞以 7,500 個細胞/孔接種在 96 孔板中並允許其黏附隔夜。將多黏菌素 B (PMB) 及測試化合物溶解於 10% DMSO 水溶液中，分別得到 20 及 60 mg/mL 之儲備溶液。利用半對數稀釋將測試化合物稀釋，得到最高濃度 3,000 或 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，得到 9 點濃度範圍加媒劑對照。亦利用半對數稀

釋將PMB稀釋，得到最高濃度1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。水及DMSO含量分別保持恆定在5%及0.5%。將測試化合物與細胞一起在37°C、5% CO_2 下在濕潤氣氛中培育24小時。將CellTiter-Blue稀釋於PBS中(1:4)並添加20% (v/v)，且在37°C下培育2小時，隨後偵測螢光產物。

【0376】減去僅有培養基之背景值，隨後使用GraphPad Prism分析資料。對於各化合物，將個別值相對於媒劑對照進行標準化。將化合物濃度值標繪為對數值，以便能夠擬合劑量-反應曲線。將曲線之底部約束為零並確定 IC_{50} 值。

【0377】表述 IC_{50} 值相對於同一實驗中PMB之 IC_{50} 值。在進行多次測定之情況下，提供中值。

四小時腎臟水準量測

【0378】將化合物以17.2 mg/kg 遊離鹼經皮下給與小鼠($n=2$ 或3)。給藥之後四小時，對動物施以安樂死並移出腎臟，修剪脂肪及結締組織，稱重並立即快速冷凍。在室溫下解凍之後，將來自各動物之成對腎臟置於含有預先稱重之經二氧化鈾穩定之氧化鋯珠粒的2 mL錐形管中。添加三氟乙酸TFA (0.25 mL, 0.15% v/v處於水中)並將管裝載至FastPrep-24均質機(MP Biomedicals Europe)上，且以6 m/s之速度經受3個30秒循環。將均質物之等分試樣(200 μL)用計算體積之TFA溶液(0.15% v/v於水中)稀釋，得到0.167公克腎臟/克均質物之最終濃度。

【0379】 將腎臟均質物(100 μ L)與甲醇(190 μ L)及TFA (110 μ L, 10% v/v 於水中)混合, 並且儲存在-20°C下隔夜以使蛋白質沉澱。在13,000 rpm及6°C下離心10分鐘之後, 將200 μ l上清液轉移至玻璃插入物中並藉由LC-MS-MS進行分析。

表 2 - 生物學結果

實例	AlogP	大腸桿菌		肺炎克雷伯氏桿菌		綠膿桿菌		鮑氏不動桿菌		HK-2相對於PMB	4小時腎臟水準(µg/g)*	4小時腎臟水準/腎HK-2
		CA58	ATCC 25922	CA64	ATCC 13822	CCUG 59347	ATCC 27853	NCTC 13424	ATCC BAA-747			
1	-6.3	4	0.125	8	0.125	0.25	0.06	0.06	0.06	8.8	267	30
2	-6.3	8	0.25	2	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25	7.2	538	75
3	-6.3	32	1	65	0.5	0.5	0.5	1	2	ND	ND	ND
4	-6.3	16	0.5	16	0.25	0.5	0.25	1	1	ND	ND	ND
5	-6.3	8	0.125	16	0.125	0.25	0.25	0.06	0.125	11.6	170	15
6	-6.3	8	0.125	8	0.125	0.5	0.125	0.5	0.5	7.8	381	49
7	-6.9	16	0.25	32	ND	0.25	0.125	0.125	0.125	ND	ND	ND
8	-6.9	16	0.125	32	ND	0.5	0.06	0.25	0.125	ND	ND	ND
9	-6.5	8	0.25	64	0.25	0.5	0.125	0.125	0.25	12.0	159	13
10	-6.5	8	0.125	16	0.5	0.25	0.125	0.25	0.25	8	346	43
11	-5.9	4	0.5	16	0.5	0.5	0.25	0.25	0.5	5.2	163	32
12	-5.9	4	0.5	8	0.5	0.5	0.125	0.25	0.25	ND	ND	ND
13	-6.2	8	0.5	16	0.5	0.5	0.25	0.5	0.5	ND	ND	ND
14	-6.2	8	1	32	0.5	1	0.5	0.5	0.5	ND	ND	ND
15	-6.1	4	0.125	16	0.125	0.5	0.25	0.06	0.06	52.1	443	8.5
16	-6.1	16	0.5	8	0.25	1	0.5	0.5	0.5	ND	ND	ND
17	-6.5	8	0.125	16	0.125	0.25	0.125	0.06	0.06	29.0	231	8
18	-6.5	16	0.25	8	0.25	0.25	0.25	0.125	0.125	32.8	535	16.3
19	-7.9	32	0.25	64	0.25	1	0.25	0.25	0.25	101.4	386	4
20	-7.9	64	1	64	2	2	0.5	1	2	ND	ND	ND
21	-6.5	16	0.125	32	0.25	0.5	0.25	0.125	0.125	26.7	209	8
23	-7.4	32	0.125	64	0.125	0.5	0.25	0.125	ND	>41	263	<6.4
22	-6.5	16	0.25	8	0.25	0.5	0.25	1	1	ND	ND	ND
24	-6.5	4	0.125	16	0.25	0.25	0.125	0.06	0.03	21.8	203	9
25	-6.5	16	0.25	2	0.5	0.5	0.25	0.125	0.125	ND	ND	ND
26	-6.4	8	0.06	8	0.5	0.5	0.25	0.03	0.06	>58	353	<6.1

實例	AlogP	大腸桿菌		肺炎克雷伯氏桿菌		綠膿桿菌		鮑氏不動桿菌		HK-2相對於PMB	4小時腎臟水準(μg/g)*	4小時腎臟水準/腎HK-2
27	-6.4	16	0.25	2	0.25	0.5	0.5	0.125	0.125	ND	ND	ND
28	-6.5	16	0.125	8	0.125	0.25	0.25	0.06	0.125	68.5	408	6.0
29	-6.5	16	0.25	8	0.25	0.5	0.25	0.125	0.125	ND	ND	ND
30	-6.8	8	0.125	16	0.125	0.5	0.25	0.06	ND	37.5	252	6.7
31	-6.8	16	0.125	4	0.25	0.25	0.25	0.125	ND	ND	ND	ND
32	-7.3	32	0.25	32	0.5	0.5	0.5	0.125	0.125	ND	ND	ND
33	-7.3	64	0.5	16	0.5	0.5	0.5	1	1	ND	ND	ND

ND - 未測定(未測試)

額外的生物學資料

腎毒性比較——實例5以及參考實例D77及38

【0380】 每天三次以17.2 mg 遊離鹼/kg 經皮下給與小鼠(n=6)多黏菌素B、硫酸黏菌素、參考實例D77、參考實例38或實例5。第4天在第一劑量之後立即開始，將小鼠轉移至單獨的代謝籠中並且在接下來之24小時內收集尿液以測定生物標記物水準(白蛋白、胱抑素C、KIM-1)。幾何平均生物標記物水準提供於下表中：

化合物	白蛋白 ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	胱抑素C ($\text{ng}/24\text{ h}$)	KIM-1 ($\text{ng}/24\text{ h}$)
PMB	1,154 - 1,912	1,155 - 1,400	4 - 22
黏菌素	2,353 - 2,548	1,266 - 1,678	42 - 89
參考實例D77	3,639	7,542	130
參考實例38	2,362	14,015	79
實例5	1,004	827	3

【0381】 PMB值顯示得自4次實驗之範圍且黏菌素得自2次實驗。

【0382】 尿液中白蛋白、胱抑素C或KIM-1升高為腎損傷之徵象。實例5顯示所有3種腎毒性生物標記物之最低水準。

【0383】 參考實例D77描述於WO 2015/135976中。參考實例38描述於WO 2016/083531中。

腎毒性比較——實例5、實例9及實例17

【0384】 以25 mg 遊離鹼/kg 以8小時間隔經皮下給與小鼠(n=6) PMB、實例5、實例9或實例17，持續四個劑量。在第四劑量之後，將動物轉移至單獨的代謝籠中並

收集尿液 24 小時以測定尿液生物標記物。收集尿液之後，對小鼠施以安樂死並收集腎臟用於組織病理學。

化合物	白蛋白 ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	胱抑素C ($\text{ng}/24\text{ h}$)	KIM-1 ($\text{ng}/24\text{ h}$)
PMB	1,147	1,425	58
實例5	343	448	1
實例9	749	754	2

【0385】 依據組織病理學，實例 5 或實例 9 組中之動物無一顯示任何退化或再生徵象。相比之下，經 PMB 處理之所有 6 只動物均顯示極低程度之腎小管再生。

【0386】 在單獨的實驗中，將實例 17 與 PMB 相比較。

化合物	與媒劑對照相比升高		
	白蛋白	胱抑素C	KIM-1
PMB	29×	2×	771×
實例17	2.7×	1.8×	4.7×

【0387】 亦評定組織病理學徵象：

	PMB	實例17
腎小管退化/壞死	4個正常/1極低程度	均正常
嗜鹼性腎小管	4個極低程度/1個中度	3個正常/2個極低程度

在食蟹獼猴中比較實例 5 與 PMB 之腎毒性

【0388】 藉由靜脈內輸注以 20 mg/kg/劑量經 1 小時給與雄性食蟹獼猴 (n = 3) 實例 5，每天 3 次，持續 7 天。在一單獨的實驗中，以 4 mg/kg/劑量給與雄性猴子 (n = 3) PMB 持續相同的時段。在兩個實驗中，每天 3 次給與對照動物生理鹽水。

【0389】 在 7 天時段結束時，對血液進行取樣，並且將血液尿素氮及肌酸酐之血清水準確定為腎損傷之指標。在實例 5 之情況下，平均 BUN 及肌酸酐水準與生理鹽水對照動物相比升高不足 50%。然而，對於給與 PMB 之動物，

BUN 水準與對照動物相比升高 76%，且肌酸酐水準高出 2.6 倍。

【0390】 在 7 天給藥時段結束時收集腎臟並且用顯微鏡檢查。在經 PMB 處理之三隻動物中，2 只顯示輕度腎小管退化且 1 只顯示極低程度退化。在經實例 5 處理之動物中，1 只顯示輕度腎小管退化且 2 只顯示極低程度退化。

【0391】 在此等實驗中，實例 5 之劑量比 PMB 高出 5 倍，但腎毒性徵象降低。給藥第 7 天時一個給藥週期之藥物暴露 (AUC_{0-8h}) 為 234 $\mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$ (實例 5) 及 117 $\mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$ (PMB)。

化合物在感染大腸桿菌 ATCC 25922 之嗜中性球減少性鼠類大腿模型中之效力

【0392】 在致使嗜中性球減少 (環磷醯胺 150 mg / kg d-4、100 mg / kg d-1) 後，將 CD-1 小鼠 (n=5) 在各大腿接種約 10^5 cfu 大腸桿菌 ATCC 25922。在感染後 1、3.5 及 6 小時經靜脈內給與小鼠 0.125、0.5 及 3 mg / kg 硫酸 PMB 或測試化合物 (當量重量遊離鹼)。在感染後 9 小時，對小鼠施以安樂死並且處理大腿以用於菌落計數。

【0393】 菌落計數相對於媒劑對照之減少示於下表中。在各情況下，相同實驗中所觀測之在 PMB 情況下之減少示於括弧中：

化合物	與媒劑對照相比之 cfu 對數下降		
	0.125 mg/kg	0.5 mg/kg	3 mg/kg
實例 5	0.1 (0.4)	2.2 (2.6)	3.4 (3.5)
實例 9	0.1 (0.4)	0.5 (0.6)	3.7 (3.9)
實例 17	0 (0.1)	1.3 (1.1)	3.7 (3.7)
實例 24	0 (0)	0.4 (0.5)	2.4 (2.9)

【0394】 所有化合物均與PMB同樣有效。

化合物在感染肺炎克雷伯氏桿菌ATCC 43816之嗜中性球減少性鼠類大腿模型中之效力

【0395】 在致使嗜中性球減少(環磷醯胺150 mg/kg d-4、100 mg/kg d-1)後，將CD-1小鼠(n=5)在各大腿接種約10⁵ cfu肺炎克雷伯氏桿菌ATCC43816。在感染後2、6及10小時經靜脈內以適當劑量給與小鼠硫酸PMB或測試化合物(當量重量遊離鹼)。在感染後16小時，對小鼠施以安樂死並且處理大腿以用於菌落計數。

【0396】 菌落計數相對於媒劑對照之減少示於下表中。在各情況下，相同實驗中所觀測之在PMB情況下之減少示於括弧中：

劑量(mg/kg)	與媒劑對照相比之cfu對數下降	
	實例5	實例24
0.125	0 (0.2)	0 (0.2)
0.25	ND	0.2 (0.2)
0.5	4.8 (4.9)	0.2 (0.9)
1	4.8 (5.2)	ND
2	ND	4.7 (4.0)
4	5.3 (5.6)	ND

ND = 未測定

【0397】 兩種化合物皆與PMB同樣有效。

化合物在感染鮑氏不動桿菌NCTC13301之嗜中性球減少性鼠類大腿模型中之效力

【0398】 在致使嗜中性球減少(環磷醯胺150 mg/kg d-4、100 mg/kg d-1)後，將CD-1小鼠(n=5)在各大腿接種約10⁵ cfu鮑氏不動桿菌NCTC13301。在感染後2、6及10小時經靜脈內給與小鼠0.125、0.5、1及4

mg/kg 硫酸 PMB 或測試化合物(當量重量遊離鹼)。在感染後 16 小時，對小鼠施以安樂死並且處理大腿以用於菌落計數。

【0399】 菌落計數相對於媒劑對照之減少示於下表中。在各情況下，相同實驗中所觀測之在 PMB 情況下之減少示於括弧中：

劑量(mg/kg)	與媒劑對照相比之cfu對數下降	
	實例5	實例24
0.125	0.4 (0.3)	0.1 (0.1)
0.5	3.1 (4.2)	2.2 (4.1)
1	6.7 (5.8)	5.5 (5.0)
4	7.4 (6.5)	5.7 (5.3)

【0400】 兩種化合物皆與 PMB 同樣有效。

化合物在感染鮑氏不動桿菌 NCTC 13301 之嗜中性球減少性鼠類肺模型中之效力

【0401】 在致使嗜中性球減少(環磷醯胺 200 mg/kg d-4、150 mg/kg d-1)後，將 CD-1 小鼠(n=8)經鼻內接種約 10⁷ cfu/肺之鮑氏不動桿菌 NCTC 13301。在感染後 2、6 及 10 小時經皮下給與小鼠硫酸 PMB (20 mg/kg)或適當劑量之測試化合物(當量重量遊離鹼)。在感染後 16 小時，對小鼠施以安樂死並且處理肺以用於菌落計數。

【0402】 菌落計數相對於媒劑對照之減少示於下表中。在各情況下，相同實驗中所觀測之在 PMB 情況下之減少示於括弧中：

劑量(mg/kg)	與媒劑對照相比之cfu對數下降	
	實例5	實例24
2.5	0	0.9
10	0	1.6

20	2.5 (0)	2.7 (0)
30	4.0	3.9

【0403】PMB在此模型中在最大耐受劑量下無效。實例5在20 mg/kg下更有效，且由於毒性降低亦可以更高水準給與以達成更大效果。

化合物在感染綠膿桿菌ATCC 27853之嗜中性球減少性鼠類肺模型中之效力

【0404】在致使嗜中性球減少(環磷醯胺200 mg/kg d-4、150 mg/kg d-1)後，將CD-1小鼠(n=8)經鼻內接種約 10^4 - 10^5 cfu/肺之綠膿桿菌ATCC 27853。在感染後2、6及10小時經皮下以適當劑量給與小鼠硫酸PMB或測試化合物(當量重量遊離鹼)。在感染後16小時，對小鼠施以安樂死並且處理肺以用於菌落計數。

【0405】菌落計數相對於媒劑對照之減少示於下表中。在各情況下，相同實驗中所觀測之在PMB情況下之減少示於括弧中：

劑量(mg/kg)	與媒劑對照相比之cfu對數下降	
	實例5	實例24
2.5	0 (0)	0.8 (0.3)
5	0 (0)	ND
7.5	ND	3.2 (1.0)
10	2 (0.7)	ND
20	3.6 (2.6)	4.4 (3.7)
40	ND	5.7

ND = 未測定

【0406】兩種化合物在此模型中皆顯示優於PMB之效力。

實例5 在利放平存在下之MIC值

生物體	菌株保藏編號	已知抗性基因型	多黏菌素B (PMB)	PMB+利放平 (1 µg/mL)	實例5	實例5+利放平 (1 µg/mL)
大腸桿菌	ATCC 25922	NA	0.25	≤0.015	0.125	≤0.015
	CDF-1	MCR-1	4	0.06	8	0.06
	IHMA 940398	NA	16	0.06	32	0.125
肺炎克雷伯氏桿菌	ATCC 13882	NA	0.25	0.06	0.125	0.06
	IHMA 580884	NA	8	0.06	16	0.125
	IHMA 520329	SHV-12, KPC-2	64	0.125	>64	0.06
綠膿桿菌	ATCC 27853	NA	0.5	0.125	0.25	0.125
	IHMA 517175	NA	8	0.25	8	0.5
	IHMA 644636	NA	32	0.5	32	1
鮑氏不動桿菌	NCTC 13301	OXA-23	0.25	≤0.015	0.06	≤0.015
	IHMA 851735	OXA-23	8	0.03	0.25	≤0.015
	IHMA 517303	NA	>64	0.125	>64	0.03

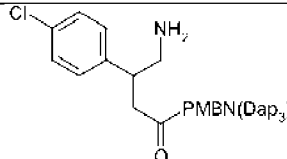
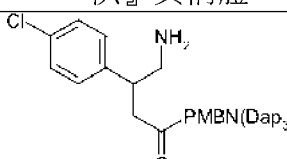
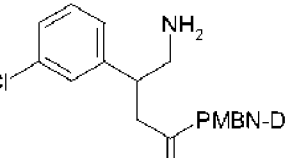
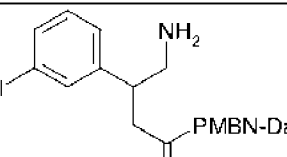
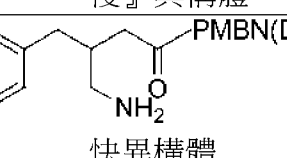
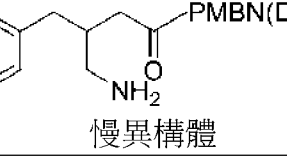
【0407】 在CLSI條件下藉由肉湯微量稀釋來測定MIC值(µg/mL)。

【0408】 PMB及實例5二者皆顯示與利放平之強協同作用，即便是對多黏菌素具有降低之易感性的菌株。

立體化學研究

【0409】 本發明化合物含有處於N末端部分中γ-胺基丙基之β位的立體中心。令人驚訝地，已發現此位置之立體異構體之一通常與較低細胞毒性及較低腎臟藥物水準相關。此為在逆相層析上更快速溶析之立體異構體。

表 3 - 立體化學結果

實例	結構	細胞毒性	腎臟中藥物水準	4 h腎臟水準/ 腎細胞毒性
1	 『快』異構體	8.8	268	30
2	 『慢』異構體	7.2	538	75
5	 『快』異構體	11.6	170	15
6	 『慢』異構體	7.8	381	49
9	 快異構體	12.0	159	13
10	 慢異構體	8.0	346	43

【0413】細胞毒性係指相對於針對多黏菌素 B 針對 HK-2 細胞株記錄之 IC_{50} 的量測 IC_{50} 。

【0414】藥物水準係指小鼠模型中在 17.2 mg/kg 皮下劑量之後 4 小時在腎臟中發現之化合物之量 ($\mu\text{g/g}$)。

額外的資料

【0415】 實例24與PMB相比在四個劑量之後在小鼠中之腎毒性

【0416】 數組雄性CD-1小鼠組(n=5)以8小時間隔經皮下以12.5或25 mg 遊離鹼/kg 給與四次多黏菌素B(PMB)或以25、50或75 mg 遊離鹼/kg 給與實例24化合物。在第四劑量之後立即將小鼠轉移至代謝籠中並收集尿液24小時以測定尿液生物標記物。收集尿液後，將小鼠處死以進行腎臟組織病理學檢查。平均生物標記物水準示於以下表4中。

表4 - 尿液生物標記物

化合物	劑量 (mg/kg)	尿液生物標記物				
		胱抑素C	β -2微球蛋白	Kim-1	NGAL	白蛋白
媒劑	-	22.24	0.05	17.01	0.00	3.44
PMB	12.5	29.45	3.43	21.89	0.30	3.75
PMB	25	44.51	43.83	3,446.42	4.37	7.73
實例24	25	31.04	0.05	27.61	0.00	4.78
實例24	50	33.97	13.22	171.59	0.63	6.95
實例24	75	81.44	68.51	1,203.41	3.71	10.93

【0417】 將尿液生物標記物相對於尿液肌酸酐進行標準化。

【0418】 對於所有五種生物標記物，在50 mg/kg 實例24下之表現低於25 mg/kg PMB，且對於該五種生物標記物中之兩種(Kim-1、NGAL)，在75 mg/kg 劑量下之表現低於25 mg/kg PMB。

【0419】 組織病理學結果示於以下表5中。

表5 - 組織病理學結果

化合物	劑量 (mg/kg)	組織病理學		
		腎小管退化/壞死	嗜鹼性腎小管(皮質)	有絲分裂相增加
媒劑	-	0/5	0/5	0/5
PMB	12.5	0/5	0/5	0/5

PMB	25	5/5 (2個最低程度/2個輕度/1個中度*)	5/5 (1個最低程度/2個輕度/2個中度*)	3/5 (2個最低程度/1個輕度)
實例24	25	0/5	0/5	0/5
實例24	50	2/5 (2個最低程度)	2/5 (2個最低程度)	2/5 (2個最低程度)
實例24	75	5/5 (1個最低程度/3個輕度/1個中度))	5/5 (2個最低程度/1個輕度/1個中度/1個顯著程度)	5/5 (5個最低程度)

* 研究時一隻動物死亡

【0420】 50 mg/kg 劑量之實例24之腎組織病理學嚴重程度低於25 mg/kg 劑量之PMB，且75 mg/kg 劑量之實例24之腎組織病理學與25 mg/kg 劑量之PMB相比為相似的。

參考文獻

【0421】 本說明書中所提及之所有文獻均以引用之方式整體併入本文中。

de Visser 等人, *J. Peptide Res.*, **61**, 2003, 298

Dolomanov 等人, *J. Appl. Cryst.* **42**, 2009, 339

Felluga 等人, *Tetrahedron Asymmetry*, **19**, 2008, 945

Sheldrick *Acta Cryst.* A71, 2015, 3-8

Sheldrick *Acta Cryst.* C71, 2015, 3-8

Vaara 等人, *Antimicrob. Agents and Chemotherapy*, **52**, 2008. 3229

Velkov 等人, *ACS Chem. Biol.* **9**, 2014, 1172

Velkov 等人, *ACS Chem. Biol.* **9**, 2014, 1172

WO 2014/188178

WO 2016/083531

W O 2 0 1 3 / 0 7 2 6 9 5

W O 2 0 1 5 / 1 3 5 9 7 6

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

【 0 4 2 2 】 國內寄存資訊 (請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

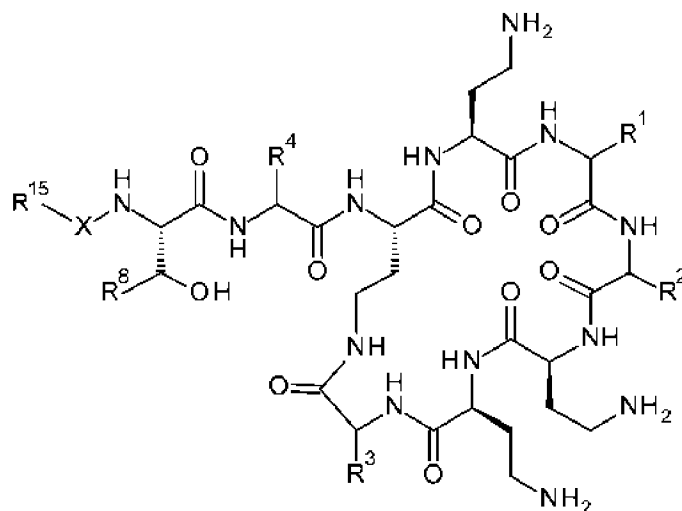
無

【 0 4 2 3 】 國外寄存資訊 (請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)

無

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種式(I)化合物，



其中：

- X - 表示 - C(O) - ；

- R¹ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為苯丙胺酸、白胺酸、正白胺酸、纈胺酸或正纈胺酸殘基；

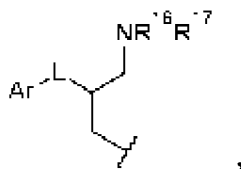
- R² 為視情況經一個羥基取代之 C₁₋₄ 烷基；

- R³ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為酰胺酸殘基；

- R⁴ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為 Dap；

- R⁸ 為氫或甲基；且

- R¹⁵ 為以下基團：



其中：

- R¹⁶ 為氫；

- R¹⁷ 為氫；

- L - 為共價鍵或亞甲基；

- Ar 為視情況經取代之芳基，例如經取代之苯基；

及其鹽、溶劑合物及經保護形式。

【請求項 2】 如請求項 1 所述之化合物，其中 -R¹ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為苯丙胺酸或白胺酸殘基。

【請求項 3】 如請求項 1 或請求項 2 所述之化合物，其中 -R² 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為白胺酸、胺基丁酸、異白胺酸、酥胺酸、纈胺酸或正纈胺酸殘基。

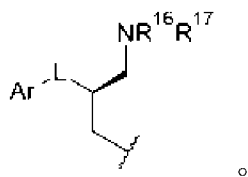
【請求項 4】 如請求項 3 所述之化合物，其中 -R² 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為白胺酸、胺基丁酸殘基。

【請求項 5】 如請求項 1 至 4 中任一項所述之化合物，其中 -R⁴ 與羰基及處於其所連接之碳之 α 位的氮一起為 L - Dap。

【請求項 6】 如請求項 1 至 5 中任一項所述之化合物，其中 -R⁸ 為甲基。

【請求項 7】 如請求項 1 至 6 中任一項所述之化合物，

其中 -R¹⁵ 為：



【請求項 8】 如請求項 1 至 7 中任一項所述之化合物，其中 -L- 為共價鍵。

【請求項 9】 如請求項 1 至 7 中任一項所述之化合物，其中 -L- 為亞甲基。

【請求項 10】 如請求項 1 至 9 中任一項所述之化合物，其中 -Ar 為視情況經取代之苯基。

【請求項 11】 如請求項 10 所述之化合物，其中該苯基經一或兩個基團 -R^S 取代，其中各 -R^S 係獨立地選自鹵基、烷基、鹵烷基及芳基。

【請求項 12】 如請求項 10 所述之化合物，其中該苯基經一或兩個基團 -R^S 取代，其中各 -R^S 係獨立地選自氯、丙基、苯基及噻吩基。

【請求項 13】 如請求項 11 所述之化合物，其中該苯基經兩個基團 -R^S 取代，其中各 -R^S 係獨立地選自鹵基、烷基、鹵烷基及芳基。

【請求項 14】 如請求項 11 所述之化合物，其中該苯基經兩個基團 -R^S 取代，其中各 -R^S 係獨立地選自鹵基。

【請求項 15】 如請求項 10 所述之化合物，其中該苯基經一或兩個基團 -R^S 取代，其中各 -R^S 係獨立地選自氟

基、溴基、碘基、烷基、鹵烷基及芳基。

【請求項 16】一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 至 15 中任一項所述之化合物，視情況連同一或多種醫藥學上可接受之載劑。

【請求項 17】如請求項 1 至 15 中任一項所述之化合物或如請求項 16 所述之醫藥組合物，其係用於治療或預防方法中。

【請求項 18】如請求項 1 至 15 中任一項所述之化合物或如請求項 16 所述之醫藥組合物，其係用於治療微生物感染之方法中。

【請求項 19】如請求項 18 所述之化合物或醫藥組合物，其中該微生物感染係細菌感染。

【請求項 20】如請求項 19 所述之化合物或醫藥組合物，其中該微生物感染為革蘭氏陰性細菌感染。

【請求項 21】如請求項 20 所述之化合物或醫藥組合物，其中該革蘭氏陰性細菌感染係選自下列：埃希氏菌屬 (*Escherichia* spp.)、克雷伯氏桿菌屬、腸桿菌屬 (*Enterobacter* spp.)、沙門氏菌屬、志賀氏菌屬、檸檬酸桿菌屬、摩氏摩根菌 (*Morganella morganii*)、假性結核病耶氏桿菌及其他腸桿菌科、假單胞菌屬、不動桿菌屬、摩氏菌屬 (*Moraxella*)、螺旋桿菌屬、窄食單胞菌屬 (*Stenotrophomonas*)、

蛭弧菌屬 (*Bdellovibrio*)、醋酸菌、退伍軍人桿菌屬及 α -變形菌門。